

ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2016/17

DOCTORANDO: **ALONSO CASTRO, LETICIA**

PROGRAMA DE DOCTORADO: **D325-DOCTORADO EN CIENCIAS DE LA SALUD**

DEPARTAMENTO DE: **MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS**

TITULACIÓN DE DOCTOR EN: **DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ**

En el día de hoy 04/04/17, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de **PEDRO JAEN OLASOLO // LUIS RIOS BUCETA // LUIS CRISTIAN PERNA MONROY**.

Sobre el siguiente tema: *CARCINOMAS BASOESCAMOSOS CUTÁNEOS: COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO Y ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO COMPARATIVO CON CARCINOMAS BASOCELULARES Y CARCINOMAS ESPINOCELULARES*

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN

aprobado, notable y sobresaliente):

GLOBAL de

(no apto,

Alcalá de Henares, 4 de 4 de 2017

EL PRESIDENTE

Fdo.:

EL SECRETARIO

Fdo.:

Montserrat Fernández
García

EL VOCAL

Fdo.:

PABLO LAZARO OCHAITO

Con fecha 31 de mayo de 2017 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- ☒ Conceder la Mención de "Cum Laude"
☐ No conceder la Mención de "Cum Laude"

FIRMA DEL ALUMNO,

Fdo.:

La Secretaria de la Comisión Delegada

¹ La calificación podrá ser "no apto" "aprobado" "notable" y "sobresaliente". El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.

INCIDENCIAS / OBSERVACIONES:

Con fecha _____ de _____ de _____
El/los Sr/s _____
a la vez de los datos contenidos en el presente documento se
remiten por fax los datos de los _____
[] Se anexa la relación de _____
[] Se anexa la relación de _____

En su virtud, la Comisión Ejecutiva



Universidad
de Alcalá

COMISIÓN DE ESTUDIOS OFICIALES
DE POSGRADO Y DOCTORADO

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 31 de mayo, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por ALONSO CASTRO, LETICIA, el día 4 de abril de 2017, titulada *CARCINOMAS BASOESCAMOSOS CUTÁNEOS: COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO Y ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO COMPARATIVO CON CARCINOMAS BASOCELULARES Y CARCINOMAS ESPINOCELULARES*, para determinar, si a la misma, se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado el voto favorable de todos los miembros del tribunal.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve otorgar** a dicha tesis la

MENCIÓN "CUM LAUDE"

Alcalá de Henares, 5 de junio de 2017

EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ESTUDIOS
OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO



Juan Ramón Velasco Pérez

Copia por e-mail a:

Doctorando: ALONSO CASTRO, LETICIA

Secretario del Tribunal: MONTSERRAT FERNÁNDEZ GUARINO.

Directores de Tesis: PEDRO JAEN OLASOLO // LUIS RIOS BUCETA // LUIS CRISTIAN PERNA
MONROY

INFORME DE LOS DIRECTORES DE TESIS PARA LA AUTORIZACION DE DEFENSA DE TESIS DOCTORAL



Dr. PEDRO JAÉN OLASOLO, Dr. CRISTIAN PERNA MONROY y Dr. LUIS RÍOS BUCETA

Directores de la tesis doctoral de Leticia Alonso Castro

CERTIFICAN QUE:

El trabajo de investigación presentado por el doctorando **Leticia Alonso Castro**, realizado bajo nuestra dirección, y titulado **"CARCINOMAS BASOESCAMOSOS CUTÁNEOS: COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO Y ESTUDIO INMUNHISTOQUÍMICO COMPARATIVO CON CARCINOMAS BASOCELULARES Y CARCINOMAS ESPINOCELULARES"**, reúne los requisitos científicos, metodológicos, formales y de originalidad suficientes para ser defendido como Tesis Doctoral ante el Tribunal que legalmente proceda.

Firma:

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'P' followed by a series of loops and a long horizontal stroke.

Dr. PEDRO JAÉN OLASOLO

A handwritten signature in blue ink, featuring a large, stylized 'C' followed by a series of loops and a long horizontal stroke.

Dr. CRISTIAN PERNA MONROY

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'L' followed by a series of loops and a long horizontal stroke.

Dr. LUIS RÍOS BUCETA

En Alcalá de Henares, a 23 de Noviembre de 2016.



*Melchor Álvarez de Mon Soto, Catedrático de Medicina y Director del
Departamento de Medicina y Especialidades Médicas*

INFORMA QUE:

En su opinión, el trabajo de investigación presentado por D^a. **Leticia Alonso Castro** titulado **"Carcinomas basoescamosos cutáneos: comportamiento biológico y estudio inmunohistoquímico comparativo con carcinomas basocelulares y carcinomas espinocelulares"**, realizado bajo la dirección de los Dres. D. Pedro Jaén Olasolo, D. Cristian Perna Monroy y D. Luis Ríos Buceta, reúne los requisitos científicos, metodológicos, formales y de originalidad, suficientes para ser defendido como Tesis Doctoral ante el Tribunal que legalmente proceda.

Y para que conste donde corresponda, a los efectos oportunos, se firma la presente en Alcalá de Henares a diecinueve de diciembre de dos mil dieciséis.



Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

**CARCINOMAS BASOESCAMOSOS CUTÁNEOS:
COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO Y ESTUDIO
INMUNHISTOQUÍMICO COMPARATIVO CON
CARCINOMAS BASOCELULARES Y CARCINOMAS
ESPINOCELULARES**

Tesis Doctoral presentada por

LETICIA ALONSO CASTRO

Directores:

Dr. PEDRO JAÉN OLASOLO

Dr. CRISTIAN PERNA MONROY

Dr. LUIS RÍOS BUCETA

Alcalá de Henares, 2016



Solo la propia y personal experiencia hace al hombre sabio

Sigmund Freud

AGRADECIMIENTOS

La elaboración de esta tesis ha supuesto un largo camino e importante esfuerzo. Antes de nada debo agradecer el apoyo e inestimable ayuda de muchas personas que han colaborado o me han acompañado durante su desarrollo, y gracias a ello han hecho posible su finalización.

Al Dr. Pedro Jaén, por su constante apoyo profesional y personal en todo mi proceso formativo en Dermatología y, especialmente, sus ánimos y comprensión en mi periodo de dedicación a la investigación en el H. Ramón y Cajal.

Al Dr. Cristian Perna, porque sin su ayuda esta tesis no habría sido posible. Gracias por las horas dedicadas, sus consejos, excelente disposición y apoyo incondicional con el que he podido contar en todo el tiempo que he dedicado a la elaboración de este trabajo.

Al Dr. Luis Ríos por animarme y darme la posibilidad de iniciar este proyecto. Y por supuesto por su apoyo, pragmatismo y buenos consejos para poder finalizarlo.

Al Dr. Jesús Cuevas por el apoyo personal, motivación constante y ánimo que siempre me ha brindado durante toda la elaboración de esta tesis.

A la Dra. Carmen Moreno por ayudarme a iniciar este trabajo, rebuscando conmigo entre las interminables bases de datos de anatomía patológica.

A Miguel Ángel Descalzo, por su fundamental aportación y ayuda en el análisis estadístico. Por su constante buena disposición, amabilidad y apoyo en las múltiples fases y dudas que surgieron durante el desarrollo de este proyecto.

No puedo olvidarme de mis compañeros (y sobre todo amigos) del Hospital Ramón y Cajal que me han acompañado en todo este tiempo, animándome y ayudándome a nivel personal y laboral, y a los que también debo agradecer el que este proyecto haya podido llegar a su fin: Sergio, Blanca, Pablo, Lorea, Natalia, Asun, Alicia....y otros tantos adjuntos y residentes que siempre estuvisteis ahí haciendo más fácil y agradable todo mi proceso de investigación.

A M. A. Hernández por guiarme y ayudarme a encontrar mi camino.

Por último y de forma especial a mis padres, Lola y Rafa y mi hermano Javi. Mi cariño y apoyo más incondicional, los que siempre han hecho posible de forma directa o indirecta, con su ayuda y apoyo constante, que haya podido conseguir mis metas profesionales y personales.

ABREVIATURAS

ADN: ácido desoxirribonucleico

Bp: biopsia

Ca: carcinoma

CB: carcinoma basocelular

CBE: carcinoma basoescamoso

CCNM: cáncer cutáneo no melanoma

CE: carcinoma espinocelular o epidermoide

CEICs: comités éticos de investigación clínica

CK: citoqueratinas

DE: desviación estándar

EMA: antígeno epitelial de membrana

ES: extirpación simple

HE: hematoxilina-eosina

HRyC: Hospital Universitario Ramón y Cajal

HUG: Hospital Universitario de Guadalajara

H12O: Hospital Universitario 12 de Octubre

IHQ: inmunohistoquímica

LLC: leucemia linfática crónica

MMP-1: metaloproteinasa de matriz-1

NCCN: *National Comprehensive Cancer Network*

OMS: Organización Mundial de la Salud

PC: porocarcinoma

PUVA: psolarenos y ultravioleta A

QA: queratosis actínica

RUV: radiación ultravioleta

SNOMED: sistema internacional de nomenclatura médica

TE: tiempo de evolución

TS: tiempo de seguimiento

VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
1. CÁNCER CUTÁNEO NO MELANOMA	3
1.1. Definición y clasificación de CCNM	3
1.2. Etiopatogenia y epidemiología del CCNM	5
1.3. Comportamiento clínico y pronóstico del CCNM	7
2. CARCINOMA BASOCELULAR	8
2.1. Clínica	8
2.2. Anatomía Patológica	9
2.3. Inmunohistoquímica	10
2.4. Comportamiento biológico	11
3. CARCINOMA EPIDERMÓIDE	12
3.1. Clínica	12
3.2. Anatomía Patológica	13
3.3. Inmunohistoquímica	13
3.4. Estudio inmunohistoquímico encaminado a la diferenciación entre carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide	14
3.5. Comportamiento Biológico	16
4. CARCINOMA BASOESCAMOSO	17
4.1. Clínica	18
4.2. Anatomía Patológica	18
4.3. Inmunohistoquímica	18
4.4. Comportamiento Biológico	19
II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS	21
III. MATERIAL Y MÉTODOS	25
1. DISEÑO DEL ESTUDIO	27
2. SELECCIÓN DE CASOS	27
2.1. Criterios de inclusión	28
2.2. Criterios de exclusión	28
3. VARIABLES CLÍNICAS DE LOS PACIENTES	29

4. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS GENERALES	30
4.1. Estudio anatomopatológico del borde quirúrgico	30
4.2. Valoración de factores de mal pronóstico	30
4.2.1. Patrón de crecimiento en áreas basaloides	31
4.2.2. Grado de diferenciación de áreas escamosas e intermedias o de transición	31
4.2.3. Profundidad de la invasión tumoral	31
4.2.4. Presencia de invasión perineural	31
4.2.5. Presencia de invasión linfovascular	31
5. VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS	32
5.1. Técnica de inmunohistoquímica y Anticuerpos usados	32
5.2. Variables inmunohistoquímicas del estudio	33
5.2.1. BerEp4, EMA y bcl-2	33
5.2.2. Elaboración de una escala semicuantitativa de diferenciación epidermoide o basocelular usando BerEp4, EMA y bcl-2	34
5.2.3. Agrupación de los casos en tres categorías inmunohistoquímicas usando BerEp4, EMA y bcl-2 y puntuación discriminante	35
5.2.4. Ki67	35
5.2.5. CK17, CK 5/6 Y 34BetaE12	36
5.2.6. p16	36
5.2.7. p63	36
5.2.8. D2-40	37
5.2.9. CD34	37
5.2.10. Adipofilina	37
6. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE CONTROLES DE CE Y CB	37
7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
IV. RESULTADOS	41
1. MUESTRA FINAL DE CASOS	43
2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES	44
3. VALORACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE CORTES TEÑIDOS CON EMATOXILINA/EOSINA	48
3.1. Estudio anatomopatológico convencional	48
3.2. Factores anatomopatológicas de mal pronóstico	48

4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO	50
4.1. Estudio inmunohistoquímico de los Casos	50
4.1.1. Valoración semicuantitativa de BerEp4, EMA y bcl-2	50
4.1.2. Resultado de la puntuación obtenida en cada caso agrupando las tres categorías inmunohistoquímicas usando BerEp4, EMA y bcl-2	51
4.1.3. Agrupación de los casos por categorías inmunohistoquímicas	51
4.1.4. ki67	52
4.1.4.1. <i>Número máximo de núcleos positivos</i>	52
4.1.4.2. <i>Media aritmética</i>	53
4.1.5. CK17, CK5/6 y 34BetaE12	54
4.1.6. p16 y p63	55
4.1.7. D2-40	55
4.1.8. CD34	55
4.1.9. Adipofilina	55
4.2. Estudio inmunohistoquímico de los Controles de Carcinoma Basocelular y Carcinoma Epidermoide	56
4.2.1. Carcinomas Basocelulares	56
4.2.2. Carcinomas Epidermoides	58
4.2.3. Resultado de la puntuación obtenida en cada caso control agrupando las tres categorías inmunohistoquímicas usando BerEp4, EMA y bcl-2	61
4.3. Estudio comparativo entre los Casos y los Controles	61
4.3.1. Comparación de los distintos marcadores en su escala cualitativa	61
4.3.2. Comparación cuantitativa de Ki67 entre los casos y los controles	64
4.3.3. Comparación de CK17 en su escala semicuantitativa entre los casos y los controles	65
4.3.4. Comparación del SCORE entre los casos y los controles	66
4.3.4.1. <i>Tasa de error del modelo discriminante</i>	67
4.3.5. Comparación de la tasa de error discriminante entre los casos y los controles usando SCORE y CK17	68
5. CORRELACIÓN DEL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO/PRONÓSTICO CON HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	69
5.1. Comparación de las características clínicas y anatomopatológicas de mal pronóstico	69
5.2. Comparación de las características clínicas de mal pronóstico con el SCORE	71
5.3. Comparación de las características anatomopatológicas de mal pronóstico con el SCORE.	71

FOTOGRAFÍAS ANATOMOPATOLÓGICAS	73
V. DISCUSIÓN	83
1. PUNTO DE PARTIDA: QUÉ ES EL CARCINOMA BASOESCAMOSO?	85
2. SELECCIÓN DE LOS CASOS	86
3. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES	87
3.1. Clínica	87
3.2. Comportamiento biológico	88
3.3. Hallazgos anatomopatológicos convencionales (Hematoxilina-Eosina)	90
4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO	90
4.1. BerEp4, EMA y bcl-2	90
4.2. SCORE y categorías inmunohistoquímicas	93
4.3. Ki67	94
4.4. CK17	95
4.5. p16	97
4.6. p63	98
4.7. Otros marcadores realizados	98
5. CORRELACIÓN COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO CON HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	100
6. LIMITACIONES DEL TRABAJO DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	101
VI. CONCLUSIONES	103
VII. RESUMEN	107
VIII. BIBLIOGRAFÍA	111
IX. ANEXOS	121
Anexo 1	123

I. INTRODUCCIÓN

1. CÁNCER CUTÁNEO NO MELANOMA

1.1. Definición y clasificación de CCNM

La complejidad de la composición celular de la piel determina que los tumores primarios de la misma sean también heterogéneos en su composición¹. La Organización Mundial de la Salud (OMS) los subclasifica en tumores queratinocíticos, neoplasias melanocíticas, tumores anexiales, neoplasias hematolinfoides, tumores de tejidos blandos y tumores neurales. Los tumores queratinocíticos derivan de los queratinocitos epidérmicos y anexiales y comprenden un amplio espectro de lesiones, desde proliferaciones benignas (acantomas) hasta carcinomas escamosos malignos de crecimiento agresivo y capacidad de metastatizar. La clasificación más aceptada es la de la OMS² que se reproduce en la Tabla 1.

Tumores queratinocíticos cutáneos	
Carcinoma Basocelular	<ul style="list-style-type: none"> - Superficial - Nodular/Sólido - Micronodular - Infiltrativo - Fibroepitelioma - CB con diferenciación anexial - Basoescamoso - Queratótico
Carcinoma Epidermoide	<ul style="list-style-type: none"> - Acantolítico - Fusocelular - Pseudovasculoso - Verrucoso - Adenoescamoso
Enfermedad de Bowen	- Papulosis Bowenoide
Queratosis actínica:	<ul style="list-style-type: none"> - Queratosis arsenical - PUVA queratosis
Verrugas:	<ul style="list-style-type: none"> - Verruga vulvar - Verruga plantar - Verruga plana

Acantomas	<ul style="list-style-type: none"> - Léntigo solar - Queratosis seborreica - A. Epidermolítico - Disqueratoma verrucoso - A. Acantolítico - Melanoacantoma - A. de células claras - A. de células grandes - A. liquen plano-like - Queratoacantoma
-----------	--

Tabla 1. Clasificación histológica de la OMS de los tumores queratinocíticos cutáneos. (Le Boit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A: Pathology and Genetics of Skin tumours. World Health Organization Classification of Tumours. Lyon, IARC Press, 2006, pag10). CB: Carcinoma basocelular.

Clínicamente se utiliza de una forma muy extendida el término “cáncer cutáneo no melanoma” (CCNM). Desde un punto de vista epidemiológico el CCNM es el cáncer más frecuente del ser humano. Este término incluye al carcinoma basocelular (CB) y al carcinoma espinocelular o epidermoide (CE), ambos derivados de los queratinocitos epidérmicos. Los principales estudios de prevalencia estiman que el CCNM supone más del 90% de las lesiones malignas cutáneas y de ellas más del 70% corresponden a CB². En el Hospital Universitario de Guadalajara (HUG), uno de los centros en los que se han recogido pacientes para este estudio, el CCNM supone el 84% de los tumores malignos cutáneos. En principio los tumores queratinocíticos malignos presentan características clínicas e histopatológicas que diferencian unos de otros. Sin embargo, suelen englobarse unidos bajo el término de CCNM con fines epidemiológicos. Este término excluye los linfomas cutáneos primarios, debido a las grandes diferencias existentes en cuanto a etiopatogenia e incidencia.

1.2. Etiopatogenia y epidemiología de CCNM

El factor etiológico más importante relacionado con el CCNM es la radiación ultravioleta (RUV). Este tipo de radiación no ionizante es capaz de producir alteraciones en el ADN de las células de la epidermis, y se considera parte de la etiología del CCNM y el melanoma. En el caso de CCNM los tumores se relacionan con dosis acumulada de RUV. Esta misma radiación provoca o acelera el envejecimiento prematuro de la piel, produciendo la típica elastosis actínica que es asiento frecuente de CCNM.

El CCNM es más frecuente en las latitudes del sur del hemisferio norte³. La proporción aproximada entre el CB y CE es de 4:1, aunque existe un amplio rango dependiendo del grado de exposición solar ambiental⁴. Se observa un aumento de la incidencia del CE en comparación con el CB a mayor exposición solar⁵. Así por ejemplo, la proporción en Reino Unido es de 4:1 y en Australia de 5:2³. En una revisión sistemática sobre la incidencia del cáncer cutáneo en nuestro país, se describe una incidencia de 113 casos al año por cada 100.000 habitantes para el CB y de 38 nuevos casos al año para el CE (proporción 3:1)⁶. Al analizar estos datos en los dos hospitales que aportan más casos a este estudio también se observan diferencias dentro del mismo país, como se identifica en las tablas 2 y 3.

Tipo	Casos	Pacientes	% CCNM
CB	6840	2895	71,18%
CE	2139	1130	27,78%
Basoescamosos	14	14	0,34%
Ca sebáceo	20	16	0,39%
Porocarcinoma	11	7	0,17%
Merkel	7	5	0,12%
TOTAL	9031	4067	100%

Tabla 2. Frecuencias de distintos CCNM en el Hospital de Guadalajara entre los años 2003 y 2012. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide. Ca: carcinoma.

Tipo	Casos	Pacientes	% CCNM
CB	7527	5145	84,51%
CE	1216	905	14,86%
Basoescamosos	6	6	0,098%
Ca sebáceo	20	19	0,31%
Porocarcinoma	10	8	0,13%
Merkel	7	5	0,08%
TOTAL	8786	6088	100%

Tabla 3. Frecuencias de distintos CCNM en el Hospital Ramón y Cajal entre los años 2003 y 2012. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide. Ca: carcinoma.

En las últimas décadas la incidencia del CCNM está aumentando en todo el mundo. No obstante es difícil conocer su verdadera epidemiología al no existir sistemas de registro adecuados. En nuestro país, al igual que en la mayoría de países desarrollados, no se exige la notificación del CCNM a los registros nacionales de cáncer, por lo que la tasa de incidencia del CB y CE está posiblemente infraestimada^{6,7}. El melanoma, un tumor con una capacidad metastatizante y una mortalidad mucho mayor, sí es motivo de inclusión en registro de tumores (proyecto GLOBOCAN). Los principales estudios de CCNM se han realizado en población de Europa, Estados Unidos y Australia de raza blanca³. Como acaba de mencionarse no son tumores asociados a importante mortalidad pero se están convirtiendo en un importante problema de salud. Esto incluye la morbilidad, las razones estéticas y los costes económicos de los sistemas de salud.

El aumento de la incidencia del CCNM puede deberse a una mayor exposición solar por cambios en los hábitos de vida, unido al envejecimiento de la población, siendo este hecho de especial relevancia en Europa^{8,7}. Sin embargo, este incremento también puede reflejar en parte un aumento del número de diagnósticos y mejora de los registros^{6,9}.

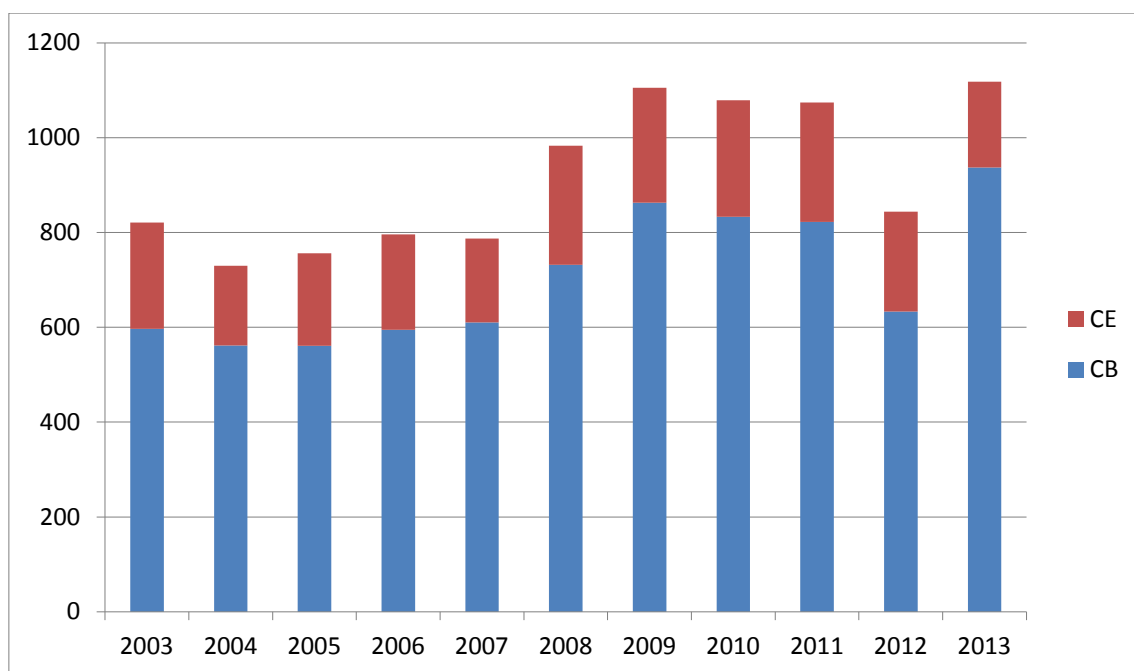


Figura 1. Casos de carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide registrados en el Hospital de Guadalajara entre el años 2003 y 2012.

1.3. Comportamiento clínico y pronóstico de CCNM

A diferencia de otros carcinomas epiteliales, como el porocarcinoma que alcanza una incidencia de metástasis linfáticas del 19%, el CCNM raramente metastatiza. En consecuencia presenta una baja tasa de mortalidad. Sin embargo, existen grandes diferencias en cuanto su pronóstico y comportamiento biológico. En el caso del CB la incidencia de metástasis es extremadamente baja, situándose en torno al 0.002%. En cambio, el CE tiene un comportamiento más agresivo con una incidencia de metástasis linfáticas que varía entre el 2 y el 5.8%¹⁰.

Se han descrito múltiples subtipos histológicos con comportamiento biológico diferenciado. Aunque habitualmente el CB y el CE pueden distinguirse fácilmente mediante su estudio histopatológico, existen entidades intermedias de fenotipo no bien definido que han creado gran controversia en la literatura. En este grupo se encontrarían los denominados carcinomas basoescamosos o metatípicos. Se han utilizado múltiples definiciones histopatológicas para describir estos tumores, basadas en el hallazgo de áreas de CB y diferenciación escamosa o CE dentro de la misma lesión. Independientemente de la terminología utilizada, estas formas se han asociado con un comportamiento biológico más

agresivo que los CB convencionales, incluso equiparándolos en algunos casos a los CE. Al no existir consenso en su definición, su diagnóstico histopatológico puede ser problemático y su correcta identificación podría tener importantes consecuencias pronósticas¹¹.

2. CARCINOMA BASOCELULAR

El CB es el tumor cutáneo maligno más frecuente. Su incidencia aumenta con la edad y con la exposición solar, ya que su etiopatogenia está relacionada con la exposición a radiación ultravioleta. El CB es más frecuente en varones y fototipos bajos.

El CB se produce habitualmente en zonas de la piel con unidades pilosebáceas¹². Los estudios concluyen que probablemente deriva de células epiteliales germinativas pluripotentes, las cuales se encuentran entre las células germinales de los folículos pilosos o en las células basales interfoliculares¹³. Aunque el CB puede coexistir con lesiones tipo queratosis actínica, actualmente no se considera que existan estadios premalignos para el CB, equivalentes a las queratosis actínicas o la enfermedad de Bowen para el CE².

2.1. Clínica

Existen diferentes variantes definidas a nivel histológico, algunas con presentación clínica característica. La mayoría aparecen en cabeza y cuello, sobre todo en zonas centrales y superiores de la cara. Habitualmente se presenta como una pápula o placa perlada o translúcida con telangiectasias prominentes en superficie (CB nodular). No es rara la ulceración central y la presencia de focos de pigmento (CB pigmentado). El CB superficial aparece más frecuentemente en el tronco, como una placa eritematosa bien definida y con descamación en superficie. El CB morfeiforme se presenta como un área plana o ligeramente elevada, indurada, de color amarillo o blanco, con márgenes imprecisos^{2,14}.

2.2. Anatomía Patológica

Se han descrito una gran variabilidad de subtipos de CB en la literatura¹⁰. Se han definido subtipos nodular, micronodular, pigmentado, adenoide, infundibuloquístico, superficial, infiltrativo, esclerodermiforme y fibroepitelioma de pinkus (Tabla 4). En la práctica, la mayor parte de los patólogos utilizan únicamente la subclasificación en 4 tipos: (1) fibroepitelioma de Pinkus (discutido por algunos autores que se trate verdaderamente de un CB); (2) superficial; (3) infiltrativo (engloba también la variante esclerodermiforme o morfeiforme) y (4) expansivo, que es el más frecuente y engloba a las variantes macronodular, micronodular, pigmentado, adenoide e infundibuloquístico. También se han descrito variantes con queratinización parcial como el queratósico, metatípico y basoescamoso. Este extremo se comentará posteriormente.

El CB expansivo se compone de lóbulos, islotes, nidos o cordones de células basaloides de citoplasma escaso y núcleo hipercromático (recuerdan a las células basales epidérmicas y del folículo piloso). Suele observarse una empalizada periférica de células característica, asociada a un estroma laxo circundante fibromucinoso. Es frecuente observar una hendidura de retracción entre tumor y estroma, figuras de apoptosis y depósito de amiloide en el estroma en el borde de avance^{10,13}. Estas características se pierden al menos en parte en el tipo infiltrativo, donde se encuentra un estroma desmoplásico. El CB superficial está compuesto de nidos de apariencia “expansiva” que afectan únicamente a la dermis papilar. El fibroepitelioma de Pinkus está compuesto de trabéculas de escasas capas de células que se disponen en empalizada y se encuentran embebidas en un estroma esclerosado (no desmoplásico).

Subtipos descritos	Diagnóstico usual	Histología
Nodular (sólido)	Expansivo	El más frecuente (70%). Lóbulos grandes basaloides formando una masa circunscrita.
Micronodular	Expansivo	Células agregadas en nidos pequeños. Empalizada menos prominente, ausencia de artefacto de retracción. Alta agresividad, recidivas frecuentes.
Superficial	Superficial	10-15%. Nidos tumorales conectados con la epidermis. Aunque denominado multifocal, parece que los nidos están conectados entre sí.
Pigmentado	Expansivo	Frecuentemente se encuentra pigmento melánico en las variantes sólida, micronodular, superficial y folicular.

Adenoide	Expansivo	Células con patrón reticulado y estroma con abundante mucina. Normalmente asociado al sólido.
Infiltrativo	Infiltrativo	5%. Patrón de crecimiento formando cordones y agregados irregulares de células basaloides que infiltran entre los haces de colágeno. Desmoplasia. No es infrecuente la invasión perineural.
Esclerosante (morfeiforme)	Infiltrativo	Similar al infiltrativo pero con estroma fibroso denso y esclerótico.
Fibroepitelioma de Pinkus	Fibroepitelioma	Múltiples ramificaciones anastomosadas en el seno de un estroma laxo fibromixoide.
Infundíbuloquístico	Expansivo	También denominado CB con diferenciación folicular. Infrecuente, se puede confundir con el queratósico.
Queratósico	-	Similar al sólido pero con diferenciación escamosa y queratinización (formación de quistes córneos) en el centro de los islotes tumorales.
Metatípico	-	Infrecuente. Nidos y cordones de células que muestran maduración a células más pálidas y de mayor tamaño.
Basoescamoso	-	Se ha definido como un CB con diferenciación a un CE. Tres tipos de células: basaloides, escamosas e intermedias.

Tabla 4. Subtipos histológicos principales de carcinoma basocelular. Weedon D. Tumors of the epidermis. Capítulo en "Weedon's skin Pathology". 3^a ed. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2010.

2.3. Inmunohistoquímica

Las técnicas de inmunohistoquímica (IHQ) permiten detectar la expresión de diversas proteínas, constituyendo en herramienta complementaria muy útil para el diagnóstico histopatológico de los tumores cutáneos.

Todos los CB muestran inmunotinción positiva frente a BerEP4 (anticuerpo monoclonal contra el antígeno epitelial humano) y negativa frente al antígeno epitelial de membrana (EMA), aunque esta podría ser positiva de forma focal en áreas escamosas de CB queratósicos^{10,11}. Los CB también expresan citoqueratinas (CK). La CK5/6 reconoce CK de alto peso molecular y es positiva en epidermis y epitelio anexial. Se expresa tanto en CB como CE¹⁵. Igualmente todos los CB resultan positivos para CK 17^{10,16}. La mayoría de los CB expresan CD10 y bcl-2, aunque las formas clínicamente agresivas muestran disminución de la expresión de este último^{10, 17, 18}. La expresión de bcl-2 se ha descrito en la periferia de las empalizadas en las formas sólidas o expansivas junto a una disminución de la tinción en formas morfeiformes¹⁹.

Los CB también expresan p63, objetivándose en algunos estudios tinción marcadamente positiva independientemente del subtipo histológico²⁰. Aproximadamente un 40% expresan p53. El D2-40 es un marcador de endotelio linfático que se ha encontrado en porcentajes variables en los CB convencionales (22-65%)^{21,22}. Cuando se expresa, D2-40 se localiza de forma focal y en la periferia de los islotes²³. Habitualmente, los CB son negativos para CD44, aunque puede expresarse en bandas tumorales infiltrativas^{10,24}. La inmunotinción para p16 de los CB ha resultado discordante en las distintas series, con porcentajes que varían entre el 14.9% y el 58%^{20,25}.

El índice de proliferación, medido con Ki67 ha demostrado una gran variabilidad en las distintas series (variando de 1 a 61%). Hasta el momento no se ha podido encontrar una correlación entre índice de proliferación y los subtipos histológicos más agresivos, aunque sí una mayor tasa de proliferación en tumores recurrentes^{26,27}.

2.4. Comportamiento Biológico

La mayoría de los CB tienen un crecimiento lento, siendo tumores relativamente indolentes, aunque algunos pueden ser agresivos produciendo destrucción local y llegar a invadir músculo, nervios, cartílago o hueso²⁸.

Su comportamiento biológico varía en función de la localización anatómica, el subtipo histológico o el tratamiento realizado. Los localizados en la región centrofacial y el tipo infiltrativo, subtipo micronodular y carcinoma basoescamoso presentan una mayor tasa de recidivas. La presencia de inmunosupresión también se considera un factor de riesgo independiente¹³.

La tasa de recidivas es muy variable, entre un 1% y un 8,7%, y depende de los factores anteriormente descritos. La diseminación sistémica es extremadamente rara y la incidencia de metástasis se ha situado entre 1:1000 y 1:35000. Éstas se localizan más frecuentemente en ganglios linfáticos, seguidas de pulmón y hueso²⁹. Se considera un factor importante la presencia de áreas de diferenciación escamosa, encontrándose más frecuentemente en los CB metastásicos que en los tumores primarios³⁰. Estos hallazgos han planteado que no se pueda excluir que algunos de estos casos constituyan variantes pobremente diferenciadas de CE¹².

3. CARCINOMA EPIDERMOIDE

El CE es el segundo cáncer cutáneo más frecuente, después del CB. Su epidemiología ha cambiado en los últimos 50 años, disminuyendo la importancia de la exposición laboral y aumentando el porcentaje de casos relacionados con la radiación ultravioleta. Otros factores como el VIH, inmunosupresión y el PUVA han aumentado el riesgo de CE en ciertos grupos de población. El CE se produce predominantemente en población de raza blanca, aumentando su incidencia con la edad, la inmunosupresión y en fototipos bajos.

En el momento actual se considera que el CE cutáneo tiene su origen en una única línea de queratinocitos transformados. Se puede originar en distintas regiones de la piel. El CE no es exclusivo de la piel, y puede aparecer en otras áreas revestidas por epitelio escamoso estratificado, como la boca, el esófago o la vagina, o en áreas de metaplasia escamosa (en pulmón, cérvix o glándulas salivares). La biología del CE cutáneo difiere de la del CE de otras localizaciones¹², donde su pronóstico es peor y frecuentemente fatal.

Las lesiones precursoras del CE cutáneo son las queratosis actínicas (QA) y la enfermedad de Bowen. En ambas se observa displasia epidérmica en diferentes grados pero siempre limitada a la epidermis. La queratosis actínica produce una displasia que generalmente se encuentra en la capa basal y suprabasal de la epidermis. La enfermedad de Bowen es una displasia que característicamente afecta a todo el grosor epidérmico.

La probabilidad de desarrollar un CE a partir de una QA se ha descrito en tasas inferiores al 1% por lesión y año. La enfermedad de Bowen se ha clasificado como un CE in situ y su potencial para convertirse en un carcinoma invasivo se ha estimado en torno a un 3%³¹.

3.1. Clínica

El CE infiltrante aparece clínicamente como una pápula, placa o nódulo del color de la piel, rosado o rojo en un área de piel con daño actínico (también puede aparecer sobre cicatrices, úlceras o zonas radiadas). La lesión puede ser exofítica o indurada y puede presentar hiperqueratosis en superficie y necrosis central con sangrado asociado³². También puede localizarse en región perianal, genitales externos o lecho ungueal, estos casos relacionados con la infección por el virus del papiloma humano.

3.2. Anatomía Patológica

El CE está formado por queratinocitos atípicos y aparecen como nidos, islotes o sábanas de epitelio escamoso infiltrante. Las células varían desde grandes células poligonales bien diferenciadas con núcleo vesiculoso, nucléolo prominente y abundante citoplasma eosinófilo con puentes intercelulares bien desarrollados, hasta células completamente anaplásicas⁵. La diferenciación es hacia la queratinización, siendo ésta variable, por lo que se clasifica en bien, moderada y pobremente diferenciado. La queratinización se hace patente histológicamente por la presencia de perlas o quistes córneos o por figuras de disqueratosis. Esta queratinización es más frecuente en los tumores mejor diferenciados. En las formas pobremente diferenciadas puede ser difícil reconocer su naturaleza, con células más basófilas y mayor número de mitosis¹³.

Se han descrito diferentes variantes con hallazgos histológicos y ocasional comportamiento biológico diferenciado: CE fusiforme, CE desmoplásico (alta tasa de recurrencias y metástasis), CE acantolítico, CE pseudovascular, CE adenoescamoso, CE verrucoso, CE metaplásico y Queratoacantoma (comportamiento biológico menos agresivo, incluso regresión espontánea).

3.3. Inmunohistoquímica

Las células del CE se han descrito habitualmente como positivas frente EMA y citoqueratinas (CK), como CK 5/6^{10,11}. En general contienen queratinas de mayor peso molecular que las que se encuentran en el CB, 34BetaE12 constituye el anticuerpo más comúnmente utilizado para identificar estas CK (reconoce CK1, CK10 y CK14), siendo positivo en CE y tumores anexiales. A diferencia del CB, los CE muestran tinción negativa frente a BerEP4 y CD10 (son positivos sólo en algunas formas sarcomatosas)^{33,34}. También se encuentra alta expresión de Ki67.

En cuanto a la tinción de los CE con EMA, la mayor parte de los trabajos describen los casos como positivos. Sin embargo no existe una definición clara de si esta positividad es difusa o parcheada y el porcentaje de células que son positivas¹⁵. Aunque sin especificar el patrón de tinción o porcentaje de células positivas, la literatura describe una positividad de EMA en los

CE cutáneos que se sitúa entre el 82,6% y el 100%^{35,36}.

Un 50% y un 60% de los CE expresan p53 y p16 respectivamente, cifras equiparables a las descritas en el CB (40% y 58% respectivamente)^{10,25}. La mayoría expresan p63 pero con un patrón de tinción muy variable, siendo más intensa y difusa en las formas pobremente diferenciadas²⁰. Éste último marcador se utiliza en el diagnóstico diferencial de carcinoma epidermoide sarcomatoso versus fibroxantoma atípico³⁷. La presencia de CD44v6 y MMP-1 se ha relacionado con la invasión tumoral^{10,24}.

La inmunopositividad para bcl-2 ha sido muy variable en los diferentes trabajos, aunque en general se trata de una tinción débil³⁸. Puizina-Iviç y cols. consideran que la inmunotinción de bcl-2 indica expresión de capa basal. Sus casos de CE resultan negativos, mientras que en las queratosis actínicas encuentran expresión sólo basal. Otros trabajos también han confirmado un 100% de CE negativos para bcl-2²⁰. En cambio, algunos estudios han encontrado expresión de bcl-2 hasta en un 67% de CE, aunque ésta es menos intensa que en piel perilesional³⁹. La positividad de bcl-2 tampoco se ha logrado relacionar con el pronóstico del CE¹⁸.

La expresión de D2-40 se ha cifrado en un 62%, porcentaje similar al límite alto de rango de tinción de los estudios de CB. En el CE la tinción es predominantemente en membrana plasmática y en la periferia del tumor, mientras que en el CB es débil y focal. El aumento de intensidad y área de tinción con D2-40 en el CE se ha relacionado con el riesgo aumentado de metástasis⁴⁰.

3.4. Estudio inmunohistoquímico encaminado a la diferenciación entre carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide

Los diferentes fenotipos de tinción inmunohistoquímica descritos pueden ayudar a la diferenciación entre CB y CE, especialmente en aquellos casos en los que el estudio histopatológico convencional no sea concluyente. Como se ha mencionado previamente los únicos marcadores que hasta el momento han demostrado clara utilidad en la distinción de estos tumores son: BerEp4, EMA y bcl-2^{20,38}.

La tinción con BerEp4 resulta positiva en todos los CB y negativa en los CE. De forma contraria EMA resulta positivo en las células del CE y negativo en el CB^{10,11}. En el caso de bcl-2, aunque existe más variabilidad en los estudios publicados, encontramos dicho marcador

positivo en la mayoría de los CB y negativo o con tinción débil en los CE^{18,19}. El índice de proliferación con Ki67 se ha descrito más elevado en el CE que el CB⁴¹. La expresión de CK17 no se ha estudiado o no nos consta en CE cutáneo.

En la tabla 5 se detalla el resumen de los marcadores inmunohistoquímicos del CB y el CE.

Marcadores IHQ	Carcinoma Basocelular	Carcinoma Epidermoide
Ber EP4	+	-
EMA	-	+
CK 5/6	+	+
34βE12	+	+
CK 17	+	No estudiado
bcl-2	+	-
CD 10	+	-
p63	+	++
p53	+ (40% variantes agresivas)	+ (50%)
Ki 67	+	++
CD44	-	+

Tabla 5. Comparación de marcadores de IHQ de los CB y CE.

3.5. Comportamiento Biológico

El CE presenta un crecimiento más rápido y agresivo que el CB. El comportamiento biológico varía dependiendo de la etiología, la localización, el tamaño, la profundidad, el subtipo histológico y el grado de diferenciación⁴².

El CE de la piel expuesta al sol de forma crónica tiene un comportamiento más indolente. La zona centrofacial, cuero cabelludo, región temporal, labios y pabellones auriculares presentan significativamente mayor riesgo de recidiva y metástasis. También se ha descrito mayor agresividad en aquellos CE que se originan en áreas de enfermedad de Bowen, en presencia de trastornos genéticos o inmunosupresión⁴³. Los CE no relacionados con la RUV presentan asimismo un peor pronóstico, como los producidos por exposición ocupacional a carcinógenos químicos, radiaciones ionizantes, o los que asientan en áreas cicatriciales o úlceras crónicas.

Se puede observar invasión perineural entre un 5-14% de los CE de cabeza y cuello, mientras que en el CB la tasa se sitúa entre un 1-6%³².

La tasa de recidiva global de los CE varía entre un 1,2-10% en función del tratamiento utilizado. La extirpación quirúrgica simple presenta tasas de recidiva local entre 3,9 y 5%, en cambio tras cirugía de Mohs este porcentaje disminuye hasta situarse en un 1,2%⁴⁴. Aproximadamente un 80% de las metástasis se producen por diseminación linfática. Salvo en fases terminales no suele afectar a otros órganos¹⁰. El riesgo de metástasis descrito en la literatura se ha situado en 2,3% a los 5 años y hasta en un 5,2% en el seguimiento a más de 5 años⁴⁵. Se considera carcinoma epidermoide de alto riesgo a aquel con un tamaño mayor a 2 cm, una profundidad de invasión mayor a 2 mm, la presencia de invasión perineural o vascular, las formas acantolíticas y pobremente diferenciadas^{42, 43}. No obstante la definición exacta del término CE de alto riesgo varía según las distintas clasificaciones⁴³.

4. CARCINOMA BASOESCAMOSO

El carcinoma basoescamoso (CBE) es una entidad controvertida, inicialmente definida como una neoplasia con histología intermedia entre el CB y el CE^{46,47}. Existen pocos trabajos en la literatura y la terminología utilizada es confusa, no existiendo una definición histológica globalmente aceptada. La mayor parte de los autores lo consideran un subtipo de CB de comportamiento biológico agresivo, aunque algunos han negado su existencia considerándolos verdaderos CE^{46,48}.

En 2005, para unificar y simplificar conceptos, la nueva clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) lo definió como un CB asociado a áreas de diferenciación escamosa², considerándolo una variante de CB de comportamiento más agresivo, con mayor incidencia de recidivas y metástasis. Los términos carcinoma basoescamoso, CB mixto o carcinoma metatípico se consideraron sinónimos, aunque algunos autores siguen diferenciando el CBE del carcinoma metatípico^{10,49}.

Actualmente la definición más aceptada es la presencia de un CB con áreas de CE y áreas de diferenciación intermedia o transición entre ambas⁵⁰. Aparece más frecuentemente en varones, a partir de la sexta o séptima décadas de la vida. Es un tumor infrecuente y su incidencia se sitúa entre el 1.2% y el 2.7% de todos los cánceres cutáneos⁵¹.

Aunque la mayor parte de las guías y manuales de referencia clasifican a los carcinomas basoescamosos como un subtipo de CB, cabe destacar que las guías de la NCCN de 2007 lo consideran un subtipo histológico de carcinoma epidermoide en base a su potencial metastásico⁴⁵.

En una reciente revisión sistemática se encontraron un total de 39 trabajos publicados sobre CBE (desde enero de 1959 hasta diciembre de 2015); en ella se incluyeron estudios retrospectivos, revisiones de la literatura, series de casos y también casos aislados⁵². Si nos ceñimos a la última y hasta ahora más aceptada definición de CBE (OMS 2005) y nos centramos en las series de casos o estudios retrospectivos, las publicaciones no son muy numerosas (no más de 25).

4.1. Clínica

El CBE no tiene una presentación clínica específica, siendo diagnosticado la mayor parte de las veces de CB y en menor medida de CE^{53,54}. La localización es similar a la de otros CB, afectando cabeza y cuello en el 80% de los casos, especialmente en el área centrofacial y perinasal (30%)⁴⁶.

4.2. Anatomía Patológica

Actualmente se acepta que el CBE se compone de 3 áreas con componentes celulares diferenciados. Las áreas de CB contienen células basaloides de pequeño tamaño, citoplasma basófilo y núcleo hipercromático. Las áreas de CE se caracterizan por una población de células escamosas poligonales, de amplio citoplasma eosinófilo con grado variable de queratinización, núcleo grande y frecuentes mitosis. Presentan además células disqueratósicas y puentes intercelulares. Entre ellas existe una zona de transición con células de citología intermedia, con citoplasma de mayor tamaño y pálido que las del CB, núcleo redondo y nucléolo ocasional^{46,55}.

El CBE suele mostrar un patrón de crecimiento infiltrativo con intensa reacción estromal. Algunos casos de este tumor pueden confundirse con carcinomas sebáceos, ya que a veces se pueden evidenciar de forma focal vacuolas lipídicas o conductos².

El diagnóstico diferencial del CBE se establece fundamentalmente con la colisión tumoral y con el CB queratósico. La colisión tumoral se diagnostica cuando aparecen áreas de CB y áreas de CE, teniendo ambos tumores un origen independientemente en la piel. En la colisión tumoral no existe zona de transición interpuesta. El CB queratósico es un subtipo de CB expansivo en el que se objetiva queratinización y formación de perlas córneas en el centro de los islotes tumorales. Se objetivan células e islotes tumorales basaloides con zonas queratinizadas, pero sin células de diferenciación escamosa o intermedia⁴⁶.

4.3. Inmunohistoquímica

A pesar de que el uso de las técnicas de IHQ ha demostrado cierta utilidad para el diagnóstico y definición más precisa del CBE y sus diagnósticos diferenciales, son pocos los estudios que han profundizado en este aspecto, y se reducen únicamente a 3 publicaciones^{11,56,57}. Son además trabajos de investigación que se publicaron hace 15-20 años.

En general se describe que estos tumores presentan un patrón inmunohistoquímico similar a los CB, pero con áreas más características de CE⁵⁶. En estos trabajos, casi todos los casos descritos muestran reacción positiva con BerEP4, aunque a menudo es parcheada. Ésta inmunotinción presenta una disminución gradual en la zona de transición, haciéndose más débil o incluso negativa en áreas de células fusiformes o con formación de perlas córneas. La tinción para el antígeno de membrana epitelial (EMA) suele ser negativa a excepción de áreas con formación de perlas córneas¹¹. Otro estudio describe que a diferencia de los CB, los CBE presentan una reacción débil a anticuerpos dirigidos contra queratinas 17 y 8⁵⁷.

4.4. Comportamiento Biológico

Tampoco hay demasiados trabajos que analicen el comportamiento biológico de los CBE⁵³. A este hecho contribuye la escasa incidencia de este tumor y el gran desacuerdo que ha existido en cuanto a su diagnóstico histológico. Los criterios de inclusión varían en los diferentes estudios y los datos son difícilmente extrapolables⁵¹.

La mayoría de los autores sugieren que el CBE tiene un peor pronóstico con una mayor tasa de recidivas y metástasis que el CB. Incluso algunos autores igualan su comportamiento al del CE^{46,58,59}.

El riesgo de recidivas se ha relacionado con el sexo masculino, márgenes quirúrgicos positivos e invasión perineural y linfática⁵⁸. Merece la pena mencionar que se han descrito series de cirugía de Mohs en CBE, donde la tasa de recidivas se ha situado por encima del 4%, superando en algunos casos a las de los CE^{50,51,60}.

En cuanto a su potencial metastásico, de acuerdo a la literatura existente, la tasa de metástasis linfática varía entre un 2% y un 18%^{50,58,61,62} y las viscerales se han documentado entre un 3.2% y un 7.4%^{55,62}. En todos estos trabajos nos encontramos series de entre 30 y 178 casos. Destacan la de Wermker cols. y la de Leibovitch y cols. en las que recogen 89 y 178 tumores, respectivamente. El estudio retrospectivo de CB metastásicos ha mostrado en muchos casos áreas de diferenciación escamosa, tanto en las lesiones primarias como en las metastásicas^{29,63}, lo que sugiere que algunos casos de CB descritos como metastásicos correspondan en realidad a CBE⁵⁵.

II. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO Y OBJETIVOS

JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO:

El Carcinoma Basoescamoso (CBE) de piel constituye un grupo de neoplasias con diagnóstico y pronóstico controvertido. Esta entidad no ha sido bien definida en la literatura y no existe una unificación de criterios histológicos para su diagnóstico preciso. El comportamiento biológico, pronóstico y tratamiento requerido para los CB y CE varía en función del tipo de tumor y subtipo histológico. En este sentido, la falta de definición del CBE impide conocer su comportamiento biológico y en consecuencia sus implicaciones terapéuticas. Nos planteamos en este trabajo analizar el comportamiento biológico del CBE y su posible relación con sus características clínicas o anatomopatológicas. Asimismo, conocer si el CBE tiene un pronóstico intermedio o polar con respecto a el CB y el CE.

La inmunohistoquímica ha sido aplicada al diagnóstico diferencial de CB y CE. Sin embargo, en el ámbito del CBE son pocos los estudios y probablemente sesgados por la dificultad para diagnosticar esta entidad. Planteamos en el presente trabajo hacer un estudio inmunohistoquímico extenso de este tumor y definir mejor si asemejan a neoplasias de tipo CB o CE. Este estudio debe centrarse por un lado con las inmunotinciones EMA, BerEp4 y bcl-2, que han sido las más frecuentemente estudiadas en el diagnóstico diferencial entre CB y CE. Por otro lado, también debe aportar marcadores menos usados en este sentido pero prometedores, como CK17.

OBJETIVOS:

1. Estudiar el comportamiento biológico del Carcinoma Basoescamoso y relacionarlo con sus características clínicas, anatomopatológicas e inmunohistoquímicas en nuestra serie de casos.
2. Analizar las características inmunohistoquímicas del Carcinoma Basoescamoso y compararlas con las del Carcinoma Basocelular y el Carcinoma Epidermoide.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Se realizó un estudio multicéntrico de utilidad diagnóstica, con recogida de datos de forma retrospectiva y con la presencia de un grupo control.

El estudio fue revisado y aprobado por los Comités Éticos de Investigación Clínica (CEICs) del Hospital Ramón y Cajal (HRyC), del Hospital Universitario de Guadalajara (HUG) y del Hospital Universitario 12 de Octubre (H12O). El proyecto de investigación se desarrolló según los principios y recomendaciones de la Declaración de Helsinki.

2. SELECCIÓN DE CASOS

Se revisaron todos los tumores cutáneos con diagnóstico de carcinoma basoescamoso o metatípico existentes en la bases de datos de los servicios de Anatomía Patológica del HRyC, HUG y H12O. En el caso del HRyC, este periodo abarcó desde el año 1973 hasta el 2014; desde 1982 hasta 2014 en el HUG y desde 1970 hasta 2014 para el H12O.

Para ello se tuvo acceso a los programas informáticos específicos de gestión del servicio de Anatomía Patológica existentes en cada uno de los tres hospitales. El HUG y el H12O utilizaban el mismo programa informático, la versión 3.4.1. de PAT-Win® (iSOFT). Después de ingresar al software, se realizaron búsquedas por codificación del sistema internacional de nomenclatura médica (SNOMED). También se realizaron búsquedas por diagnóstico literal, incluyendo en ambos casos los términos “basoescamoso” o “metatípico”. El HUG sólo disponía de información digitalizada en el programa desde el año 2000, con anterioridad a esa fecha se realizó la búsqueda de forma manual en un fichero que incluía todos los diagnósticos anatomopatológicos finales por orden alfabético.

En el HRyC se estaba utilizando el programa informático Delphin®. En primer lugar se realizaron también búsquedas mediante SNOMED (basoescamoso y/o metatípico). Además se revisaron todos aquellos casos en los que en un mismo informe anatomopatológico se incluían tanto el código SNOMED de carcinoma epidermoide como el de carcinoma basocelular.

Se extrajeron del archivo de preparaciones histológicas de los tres hospitales todos los casos que cumplían los criterios de búsqueda y que habían sido elegidos tras la selección anterior inicial. Con las preparaciones, se realizó una nueva valoración histopatológica de los cortes teñidos con hematoxilina eosina (HE) por parte de los dermatopatólogos de cada hospital (Dra. Carmen Moreno del HRyC; Dr. Jose Luis Rodríguez-Peralto del H12O; Dr. Jesús Cuevas y Dr. Cristian Perna del HUG). Tras la reevaluación se incluyeron aquellos tumores que cumplían la definición de carcinoma basoescamoso, según los criterios de la última clasificación de la OMS (2005): “CB asociado a áreas de diferenciación escamosa”. Posteriormente se comprobó la existencia de bloque de parafina de los casos.

2.1 Criterios de inclusión

Se incluyeron finalmente en el estudio aquellos pacientes que cumplían todos los criterios siguientes:

- Diagnóstico anatomopatológico inicial de carcinoma basoescamoso o metatípico de piel.
- Diagnóstico revisado de carcinoma basoescamoso de piel según los criterios de la clasificación de la OMS (2005).
- Existencia de bloque de parafina de la lesión.

2.2 Criterios de exclusión

Se excluyeron de este estudio aquellos pacientes con alguna de las siguientes características:

- Pacientes con diagnóstico inicial de carcinoma basoescamoso o metatípico de piel que en la revisión no cumplen claramente los criterios de basoescamoso de piel según los criterios de la OMS (2005).
- Ausencia de bloque de parafina.

3. VARIABLES CLÍNICAS DE LOS PACIENTES

Los datos clínicos fueron extraídos de las historias clínicas de cada paciente incluido en el estudio. La información se encontraba disponible a través de la historia clínica electrónica de cada hospital. Para aquellos pacientes anteriores al año 2000, los datos se obtuvieron de la historia clínica original. Las variables que se recogieron fueron:

Variable	Cualitativa/Cuantitativa	Descripción/Unidades
Edad	Cuantitativa	años
Sexo	Cualitativa	varón/mujer
Inmunosupresión	Cualitativa	Si/No
AP de CCNM	Cualitativa	CB/CE/ambos
Localización tumor	Cualitativa	A/M/B
Tamaño	Cuantitativa	mm
Ulceración	Cualitativa	Si/No
Tiempo de evolución	Cuantitativa	meses
Tumor 1º o recidiva	Cualitativa	Tumor 1º/Recidiva
Diagnóstico de sospecha	Cualitativa	CB/CE/otros
Método obtención muestra	Cualitativa	Bp/E.S/Mohs
Margen quirúrgico	Cuantitativa	mm
Tiempo de seguimiento	Cuantitativa	meses
Recidiva en seguimiento	Cualitativa	Si/No

Tabla 6. Variables clínicas recogidas de las historias de los pacientes. AP: antecedentes personales. CCNM: Cáncer cutáneo no melanoma. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide. A: área alto riesgo de recidiva. M: área de riesgo medio recidiva. B: área de riesgo bajo de recidiva. Tumor 1º: tumor primario. Bp: biopsia cutánea. E.S: extirpación simple.

La localización de las lesiones se clasificó de acuerdo a las guías de la *National Comprehensive Cancer Network* (NCCN) del año 2000⁶⁴. Se definió como [1] área de riesgo alto de recidiva (A) al área centrofacial, párpados, cejas, zona periorbitaria, nariz, labios (cutáneo y vermellón), mentón, mandíbula, surcos preauricular y postauricular, sien, pabellón auricular, genitales, manos y pies; [2] área de riesgo medio de recidiva (M) a mejillas, frente, cuello y cuero cabelludo y [3] área de riesgo bajo de recidiva (B) al tronco y extremidades.

El tamaño del tumor fue medido clínicamente y se expresó en mm el diámetro máximo de la lesión.

La presencia de ulceración se determinó cuando en la historia clínica se informaba este dato o se describía costra hemática.

Los métodos de obtención de las muestras fueron biopsia cutánea, extirpación simple o cirugía de Mohs.

4. VARIABLES ANATOMOPATOLÓGICAS GENERALES

Las preparaciones fueron valoradas por 2 observadores de forma independiente, posteriormente todos los casos fueron evaluados de forma conjunta.

Se recogieron distintas variables anatomopatológicas de los casos a estudio que se describen a continuación y se resumen en la tabla 7.

4.1. Estudio anatomopatológico del borde quirúrgico

Se estableció la presencia o no de borde afecto en el estudio histopatológico. Las biopsias con intención no curativa fueron excluidas de esta valoración.

4.2. Valoración de factores de mal pronóstico

Se valoraron en los cortes teñidos con hematoxilina-eosina la presencia de factores histopatológicos asociados a mayor riesgo de recurrencia. Se evaluaron las siguientes características.

4.2.1. Patrón de crecimiento en áreas basaloides

Se clasificó en 2 categorías, siguiendo los criterios diagnósticos histopatológicos de los CB cutáneos: patrón de crecimiento expansivo o infiltrativo.

4.2.2. Grado de diferenciación de áreas escamosas e intermedias o de transición

Se definieron 3 categorías de acuerdo a la clasificación utilizada para los CE:

- G1: Bien diferenciado.
- G2: Moderadamente diferenciado.
- G3: Pobrementemente diferenciado o indiferenciado.
- No valorable: escasez de componente escamoso para realizar la gradación.

4.2.3. Profundidad de la invasión tumoral

Se midió la profundidad de la invasión tumoral en milímetros desde la capa granulosa, análogamente a como se realiza la medición del Breslow en los melanomas. Esto pudo realizarse únicamente en aquellas muestras con orientación correcta.

4.2.4. Presencia de invasión perineural

Esta se definió como infiltración tumoral de nervios de $\geq 0,1$ mm de diámetro.

4.2.5. Presencia de invasión linfovascular

Se evaluó la presencia de invasión vascular en todas las muestras estudiadas.

Variable	Cuantitativa/Cualitativa	Descripción/Unidades
Bordes	Cualitativa	Afecto/No afecto
Crecimiento basaloide	Cualitativa	Expansivo/Infiltrativo
Diferenciación escamosa	Cualitativa	G1/G2/G3
Profundidad invasión	Cuantitativa	mm
Invasión perineural	Cualitativa	Si/No
Invasión linfovascular	Cualitativa	Si/No

Tabla 7. Variables anatomopatológicas generales.

5. VARIABLES INMUNOHISTOQUÍMICAS

5.1. Técnica de Inmunohistoquímica y Anticuerpos usados

La técnica empleada fue estreptavidina-biotina con fosfatasa alcalina con la pauta que se describe en la tabla 8.

Orden	Paso
1	Desparafrinar los cortes de 3 micras.
2	Hidratar (lavar en agua corriente).
3	Digestión: Tripsina o pepsina según anticuerpo primario a 37% -Tripsina al 0,1% en CaCl_2 al 0,1% 15 min. -Pepsina al 0,4% en HCL al 0,01% 22 min.
4	Lavar en agua destilada tibia.
5	Bloqueante "caseína" (30 min): -Leche en polvo Molico al 5%. -Triton X-100 (SIGMA) al 0,2%.
6	Varios lavados en agua destilada
7	Lavado en Buffer Tris 3 min.
8	Anticuerpo primario específico 30-45 min. (en cámara húmeda).
9	Dos o tres lavados en Buffer Tris 6min.
10	Anticuerpo secundario biotinado polivalente 30min. (DAKO, Multilink, Código E. 453).
11	Dos o tres lavados en Buffer Tris 6min.
12	Estreptavidina-Biotina, 30min. (DAKO)
13	Dos o tres lavados en Buffer Tris 6min.
14	Revelador (Diaminobenzidina de SIGMA), +/- 10 min.
15	Lavar en agua destilada.
16	Contrastar con Hematoxilina acuosa, 1 ó 2min.
17	Montar en medio acuoso (AQUATEX MERCK).

Tabla 8. Técnica de realización de la IHQ.

En este estudio de investigación se usaron anticuerpos monoclonales de ratón comercializados. De esta manera, los resultados pueden ser fácilmente homologados y contrastados. En los siguientes apartados se describen las variables que se estudiaron con ellos, detallándose la forma en la que se obtuvo el valor numérico para cada variable.

5.2. Variables inmunohistoquímicas del estudio

5.2.1. BerEp4, EMA y bcl-2

Se utilizaron BerEp4, EMA y bcl-2 como principales marcadores de la IHQ, en base a su alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico histopatológico de los tumores cutáneos.

La valoración de estos tres marcadores se transcribe en la tabla 9. BerEp4 se valoró en dos aspectos: cualitativamente, incluyendo 2 categorías tales como pérdida de expresión y tinción clara (difusa o parcheada) y semicuantitativamente en tres categorías. Se consideró 0 la negatividad absoluta, 1 una positividad parcheada y 2 una positividad clara y difusa tanto de membrana como de citoplasma. EMA se valoró también de forma semicuantitativa de forma inversa al marcador anterior. La negatividad absoluta (ausencia de tinción) se consideró como 2, la positividad focal en áreas de apariencia queratinizada como 1 y la positividad difusa clara de membrana con variable tinción citoplasmática como 0. El marcador inmunohistoquímico bcl-2 se valoró de forma cualitativa en dos categorías, considerándose 0 la negatividad y como 1 cualquier tipo positividad citoplasmática, focal o difusa.

Marcador IHQ	Valoración cualitativa	Valoración semicuantitativa
BerEP4	+ POSITIVO	2 (positivo claro difusa de membrana y citoplasma)
		1 (positividad fuerte pero parcheada)
	- NEGATIVO	0 (negativo)
EMA	- NEGATIVO	2 (negativo)
	+POSITIVO	1 (positividad focal sólo en áreas más claramente queratinizadas)
		0 (positividad difusa clara de membrana con variable tinción citoplasmática)
bcl-2	+POSITIVO	1 (positivo intenso, claro. Delimitando diferenciación basal, sin necesidad de tinción difusa)
	- NEGATIVO	0 (Negativo)

Tabla 9. Valoración de la inmunoexpresión de los siguientes marcadores: BerEP4, EMA y bcl-2.

5.2.2. Elaboración de una escala semicuantitativa de diferenciación epidermoide o basocelular usando BerEp4, EMA y bcl-2

Los resultados semicuantitativos de la IHQ obtenidos a partir de los tres marcadores anteriores, según se detalla en el punto previo, se sumaron en cada uno de los pacientes, de manera que se obtuviera una escala semicuantitativa con 6 categorías (0,1,2,3,4,5), denominándose a la misma *SCORE*. A mayor puntuación obtenida en la escala se obtendría una mayor compatibilidad con el fenotipo inmunohistoquímico concordante con CB y a menor puntuación habría una mayor compatibilidad con el fenotipo concordante con CE.

5.2.3. Agrupación de los casos en tres categorías inmunohistoquímicas usando BerEp4, EMA y bcl-2 y puntuación discriminante

En primer lugar y en base a la experiencia del grupo investigador, la puntuación obtenida con estos 3 marcadores se usó para definir tres fenotipos inmunohistoquímicos agrupados de la siguiente manera:

0-1: Carcinoma epidermoide

2-3: Patrón mixto

4-5: Carcinoma basocelular

Posteriormente se comprobó la capacidad discriminatoria de la variable SCORE en su forma semicuantitativa con 6 categorías (0,1,2,3,4,5) y en su forma de 3 categorías (0-1, 2-3, 4-5) y se analizaron los resultados mediante la matriz de confusión obteniendo así la tasa de clasificaciones incorrectas usando como controles 10 carcinomas epidermoides y 10 carcinomas basocelulares.

Categorías	Carcinoma Epidermoide		Patrón mixto		Carcinoma Basocelular	
SCORE	0	1	2	3	4	5

Tabla 10. Fenotipo inmunohistoquímico en base a la puntuación obtenida en el SCORE.

5.2.4. Ki67

La inmunoexpresión de Ki67, marcador nuclear, se realizó de forma cuantitativa usando el microscopio digital Leica, DMD 108. Se contabilizó el número de núcleos positivos en un área de 50.000 μm^2 a 400 aumentos en dos regiones distintas del tumor, en las que previamente y tras valoración de toda la preparación se había observado la mayor y menor proliferación, respectivamente. De cada caso se obtuvieron 3 cifras: los valores absolutos de los campos de mayor y menor actividad y su media aritmética. Se estudiaron únicamente 2 variables:

- Mayor actividad proliferativa.
- Actividad proliferativa media.

5.2.5. CK17, CK 5/6 y 34BetaE12

Los tres marcadores para citoqueratinas se valoraron de forma semicuantitativa utilizando los mismos criterios para todos ellos. Se otorgó a cada preparación una valoración semicuantitativa de 4 categorías: negativo (-), +, ++ o +++. Esta valoración se realizó para cada marcador en función de la intensidad y extensión de la inmunexpresión de membrana, de acuerdo a la tabla 11.

Resultado	Valoración
+++	Tinción intensa y marcada en más del 90% de las células.
++	Tinción intensa y marcada entre el 50-90% de las células.
+	Tinción débil en cualquier % ó Tinción intensa y marcada en menos del 50% de las células.
-	Ausencia de tinción o mínima tinción focal apenas perceptible.

Tabla 11. Valoración de la inmunexpresión de los marcadores para citoqueratinas, p16 y p63.

5.2.6. p16

La valoración de este marcador se realizó también de forma semicuantitativa con criterios similares a los utilizados previamente en el caso de las citoqueratinas (Tabla 11). En este caso, por la peculiaridad de tinción de p16 se consideró inmunexpresión a la tinción positiva nuclear y/o citoplasmática.

5.2.7. p63

Se evaluó la inmunotinción positiva nuclear de p63. Se clasificó en negativo (-), +, ++ o +++ siguiendo los criterios de la valoración semicuantitativa mencionados previamente (Tabla 11).

5.2.8. D2-40

El marcador D2-40 se usó con un doble sentido. Por un lado se pusieron de manifiesto los vasos linfáticos para certificar o excluir la presencia de invasión linfática-vascular. Por otro, se evaluó la positividad de la neoplasia como 0 (ausencia de tinción) o 1 (cualquier tipo de expresión citoplasmática).

5.2.9. CD34

El CD34 se usó también con una doble intención. Por un lado poner de manifiesto las estructuras vascular para certificar o excluir la presencia de invasión vascular. Por otro lado certificar o excluir la presencia de estroma CD34 positivo acompañando a los nidos neoplásicos.

5.2.10. Adipofilina

Se evaluó la expresión de adipofilina en el tumor. Se usó como control interno positivo la tinción fuerte de membrana en la periferia de las vacuolas lipídicas intracitoplasmáticas de las glándulas sebáceas. En el caso de los nidos tumorales la tinción positiva débil granular se consideró negativa¹⁵.

6. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO DE CONTROLES DE CE y CB

Se realizó un estudio inmunohistoquímico de los marcadores IHQ con teórica capacidad de discriminación entre CE y CB. Se escogieron diferentes casos de CCNM bien definido (de fácil diagnóstico histopatológico en cortes de H-E convencionales). Todos los casos utilizados se obtuvieron de la base de datos de Anatomía Patológica del HUG y el HRyC, revaluándose histopatológicamente y comprobándose la existencia de bloque de parafina. Finalmente se incluyeron:

- 10 casos de CB, 5 correspondientes a CB expansivo y 5 a CB infiltrativo. Se revisaron exhaustivamente las preparaciones para no incluir ningún caso que presentara diferenciación queratósica. Se estudiaron en todos ellos BerEp4, EMA, bcl-2, CK17, p16, p63 y Ki67. Se utilizaron los mismos criterios de valoración previamente expuestos para los casos de estudio.

- 10 casos de CE bien diferenciado. Se estudió en todos BerEp4, EMA, bcl-2, CK17, p16, p63 y Ki67.

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un análisis descriptivo de las características clínicas y anatomopatológicas de los pacientes con carcinoma basoescamoso de piel, utilizando medidas de tendencia central según la distribución de las variables de la muestra: medias y desviaciones estándar para variables simétricas y medianas y cuantiles para variables asimétricas. También se utilizaron frecuencias absolutas y porcentajes para describir las variables cualitativas y semicuantitativas. Para el análisis del comportamiento biológico y pronóstico de los CBE, se compararon las características clínicas de mal pronóstico con las características anatomopatológicas de mal pronóstico mediante la prueba χ^2 .

De igual manera se procedió con el análisis descriptivo para el estudio IHQ de los pacientes CBE, incorporando además diagramas de barras para representar la agrupación de los casos por categorías inmunohistoquímicas e histogramas para representar el Ki67. También se realizó el mismo análisis en el estudio IHQ de los controles CB y CE.

En la comparación entre los 3 grupos (CBE, CB y CE) se utilizó la prueba χ^2 y la de Fischer en las variables cualitativas y semicuantitativas (BerEp4, EMA, bcl-2, p16, p63 y CK17) y el test U de Mann–Whitney en variables asimétricas (Ki67). El nivel de significación se fijó en un 5% (error $\alpha=0,05$). Cuando se detectaron diferencias significativas entre los 3 grupos, también se realizaron comparaciones por pares según grupos (CBE vs CB, CBE vs CE y CB vs CE). En este tipo de comparaciones múltiples el nivel de significación estadística no se fijó en el 5%, se fijó en el 1,7% ($0,05/3=0,017$).

Para comparar el SCORE entre los 3 grupos (CBE, CB y CE) se utilizó la prueba t de Student (valoración cuantitativa) con un nivel de significación del 5%. Además se comprobó si 2 a 2 también presentaban diferencias entre ellos (nivel de significación del 1,7%).

Se realizó un análisis exploratorio discriminante utilizando el SCORE para determinar su capacidad discriminatoria a la hora de diagnosticar CBE. El análisis discriminante es una técnica de clasificación donde el objetivo es obtener una función capaz de clasificar a un nuevo

individuo a partir del conocimiento de los valores de ciertas variables discriminadoras. También con carácter exploratorio, se analizó el rendimiento discriminativo del SCORE en conjunto con la CK17. Se decidió no analizar de forma exploratoria el resto de parámetros IHQ por carecer de relevancia clínica por un lado y por no haber sido descritos en detalle en la literatura por otro.

Por último, se analizó la posible relación del comportamiento biológico de los CBE con los hallazgos inmunohistoquímicos. Se compararon las características clínicas de mal pronóstico y las características anatomopatológicas de mal pronóstico con el SCORE mediante la prueba t de Student.

IV. RESULTADOS

1. MUESTRA FINAL DE CASOS

Tras la búsqueda y revisión inicial en las bases de datos de los servicios de Anatomía Patológica, se encontraron un total de 57 tumores cutáneos con diagnóstico de carcinoma basoescamoso o metatípico (23 casos correspondientes al HRyC, 19 en el HUG y 15 en el H120).

Posteriormente se evaluó si los casos encontrados cumplían los criterios de inclusión previamente descritos. La reevaluación histopatológica de los cortes teñidos con HE permitió confirmar finalmente un total de 42 casos (73,7% de los casos iniciales) que cumplían la definición de carcinoma basoescamoso según los criterios de la última clasificación de la OMS (2005). En todos ellos existía bloque de parafina en buenas condiciones, con material suficiente para la realización de todas las determinaciones inmunohistoquímicas, y por lo tanto conformaron la muestra definitiva de este estudio.

Se excluyeron de este trabajo de investigación un total de 15 casos (26,3% de los casos iniciales), porque al reevaluarlos histopatológicamente no se consideraron carcinomas basoescamosos. La distribución final de casos incluidos y excluidos para este trabajo de investigación, así como las causas de exclusión, se detalla en la figura 2 y tabla 12.

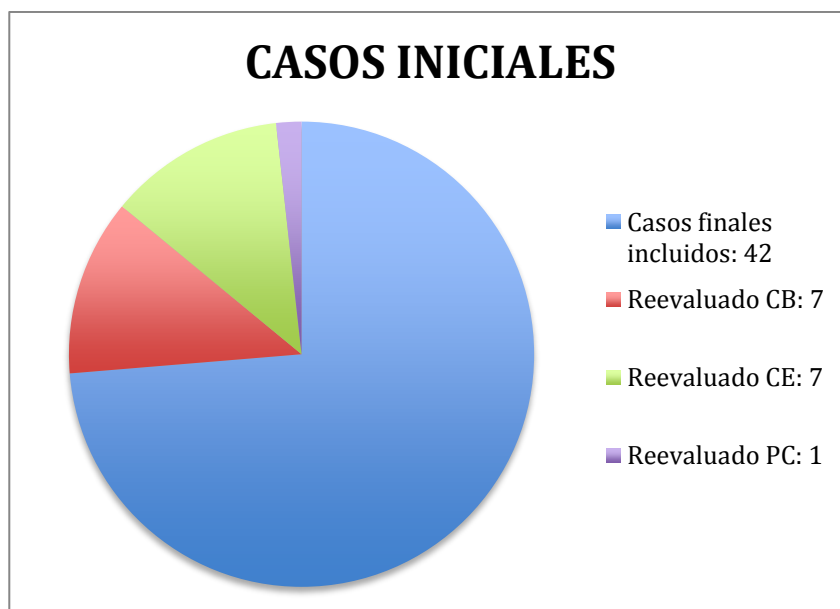


Figura 2. Casos iniciales y finales incluidos en el estudio y causas de exclusión. CB: Carcinoma basocelular. CE: Carcinoma epidermoide. PC: Porocarcinoma.

Casos iniciales	Casos incluidos	Casos excluidos
57	42	15

Tabla 12: Distribución final de los casos.

2. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE LOS PACIENTES

Las características de los pacientes participantes quedan recogidas en las tablas 13 y 14. De los 42 pacientes estudiados hubo 8 mujeres y 34 varones con edades comprendidas entre 52 y 97 años (media 77 años).

En cuanto a la presencia de inmunosupresión, de los 34 pacientes con información disponible, 8 (19%) presentaron inmunosupresión. Las causas de inmunosupresión fueron: trasplante de órgano sólido (3 pacientes), diabetes mellitus (2 pacientes), procesos linfoproliferativos (2 pacientes) y tratamiento inmunosupresor (corticoides orales) de larga evolución (1 caso).

En cuanto a los antecedentes de otras neoplasias cutáneas sólo se encontraron datos disponibles en 32 pacientes, de los cuales 20 (62%) tenían antecedentes de CCNM . En 11 pacientes había previamente tanto CB como CE; en 6 pacientes únicamente se encontró previamente CB y en 3 pacientes únicamente CE. Por patología, el CB fue más frecuente (17 pacientes) que el CE (14 pacientes). Tabla 13.

Características clínicas	N (porcentaje) [‡]
Número de casos, (%)	42 (100)
Edad (años), media (DE)	77 (11,5)
Sexo, n (%)	
Mujeres	8 (19)
Varones	34 (81)
Inmunosupresión, n(%)	8 (19)
Antecedentes CCNM [#] , n (%)	
CB	6 (19)
CE	3 (9)
CB+CE	11 (34)
No	12 (38)

Tabla 13. Características clínicas de los casos. CCNM: Cáncer cutáneo no melanoma; CB: Carcinoma basocelular; CE: Carcinoma epidermoide; DE: Desviación estándar; [‡]La tabla representa frecuencias y porcentajes salvo que se indique lo contrario; [#]Los porcentajes están calculados sobre el número de casos disponibles.

En cuanto a la localización de las lesiones, 26 casos (66%) correspondían con área de riesgo alto de recidiva (A), 6 se localizaron en área de riesgo medio (M) y 7 en área de riesgo bajo (B). En 3 casos no se pudo obtener información sobre la localización del tumor.

En la tabla 14 se detallan los datos clínicos del tumor tales como la localización, tamaño, tiempo de evolución, ulceración y diagnóstico de sospecha. El tamaño tumoral estaba comprendido entre 3 y 40 mm. El tiempo de evolución del tumor varió entre 3 y 36 meses. Catorce de los casos presentaban ulceración y en ningún caso se evidenciaron metástasis al diagnóstico.

El diagnóstico de sospecha fue en la mayoría de los casos CB (23/36), seguido de CE (10/36), en casos aislados se sospecharon otras lesiones como queratosis actínica, tumor benigno anexial o melanoma amelanótico.

Características clínicas tumor	N (porcentaje) [‡]
Número de casos, (%)	42 (100)
Localización [#] , n (%)	
A	26 (67)
M	6 (15)
B	7 (18)
Tamaño (mm), mediana (p25-p75)	13 (5-18)
TE (meses), mediana (p25-p75)	12 (10-16)
Ulceración [#] , n (%)	
No	18 (56)
Si	14 (44)
Diagnóstico de sospecha [#] , n (%)	
CB	23 (64)
CE	10 (28)
Otros	3 (8)

Tabla 14. Características clínicas del tumor. A: área de riesgo alto de recidiva; M: área de riesgo medio de recidiva; B: área de riesgo bajo de recidiva; TE: Tiempo de evolución; CB: Carcinoma basocelular; CE: Carcinoma epidermoide; p25: Percentil 25; p75: Percentil 75; [‡] La tabla representa frecuencias y porcentajes salvo que se indique lo contrario; [#] Los porcentajes están calculados sobre el número de casos disponibles.

En la tabla 15 se detallan los datos clínicos de indicación de tratamiento, tratamiento realizado, margen quirúrgico, tiempo de seguimiento y recidiva. La indicación de biopsia o extirpación quirúrgica de las lesiones fue la existencia de un tumor cutáneo primario o la presencia de recidiva tumoral clínica tras tratamiento previo (cirugía, crioterapia, terapia fotodinámica, imiquimod). Se operaron 5 pacientes por recidiva de 35 con datos disponibles, 4 mediante extirpación simple y 1 mediante biopsia. La mayoría de los tumores primarios se operaron mediante extirpación simple (26).

Las muestras histopatológicas a estudio se obtuvieron tras biopsia cutánea, extirpación simple o cirugía de Mohs.

El margen quirúrgico en el caso de las extirpaciones simples varió entre 3 y 20 mm, siendo 5mm el margen más frecuentemente utilizado (12 pacientes). Se realizó cirugía de Mohs en 2 casos primarios, requiriendo 2 y 3 pases, respectivamente, para la erradicación del tumor.

Se obtuvo seguimiento clínico de los pacientes en 34 de los casos, siendo muy variable, desde 2 a 216 meses. Durante este tiempo se objetivó recidiva tumoral en 4 pacientes. En ningún caso se detectaron metástasis.

Tratamiento y seguimiento	N (porcentaje) [¥]
Número de casos, (%)	42 (100)
Indicación tratamiento [#] , n (%)	
Tumor primario	30 (86)
Recidiva clínica	5 (14)
Tratamiento [#] , n (%)	
Extirpación simple	31 (84)
Cirugía Mohs	2 (5)
Biopsia	4 (11)
Margen quirúrgico (mm) [#] , n (%)	
3	3 (12)
4	6 (23)
5	12 (46)
10	4 (15)
20	1 (4)
TS (meses), mediana (p25-p75)	21 (12-48)
Recidiva [#] , n (%)	
No	30 (88)
Si	4 (12)
Metástasis [#] , n (%)	
No	36 (100)
Si	0 (0)

Tabla 15. Tratamiento realizado y seguimiento clínico. TS: Tiempo de seguimiento; [¥]La tabla representa frecuencias y porcentajes salvo que se indique lo contrario; [#]Los porcentajes están calculados sobre el número de casos disponibles.

3. VALORACIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE CORTES TEÑIDOS CON HEMATOXILINA/EOSINA

3.1. Estudio anatomopatológico convencional

El estudio anatomopatológico de las piezas quirúrgicas evidenció afectación de bordes en 7 pacientes (borde lateral en 4 casos y profundo en 3 casos). Tabla 16.

Afectación de bordes [#] , n (%)	N (porcentaje)
No	24 (77)
Si	7 (23)

Tabla 16. Estudio anatomopatológico convencional. [#]Los porcentajes están calculados sobre el número de casos disponibles.

3.2. Factores anatomopatológicos de mal pronóstico

Los resultados del estudio histopatológico de aquellos factores relacionados con el pronóstico del tumor se muestran en la tabla 17.

El patrón de crecimiento de las áreas basaloides fue de tipo expansivo en 20 casos e infiltrativo en 21 casos. El grado de diferenciación de las áreas de diferenciación escamosas o de transición fue la siguiente: no valorable (4 casos), G1 (13 casos), G2 (22 casos) y G3 (3 casos).

La profundidad de la invasión tumoral pudo ser valorable en 32 casos. Se situó entre 0,2 y 12,89 mm.

La presencia de invasión perineural se evidenció en 2 casos de 31 casos totales valorables. En ningún caso se evidenció invasión linfovascular.

Factores anatomopatológicos	N (porcentaje) [¥]
Número de casos, (%)	42 (100)
Patrón CB [#] , n (%)	
Expansivo	20 (49)
Infiltrativo	21 (51)
Diferenciación CE [#] , n (%)	
G1	13 (34)
G2	22 (58)
G3	3 (8)
Profundidad invasión (mm), mediana (p25-p75)	2,91 (1,51-3,93)
Invasión perineural [#] , n (%)	
No	29 (94)
Si	2 (6)
Invasión linfovascular, n (%)	
No	42 (100)
Si	0 (0)

Tabla 17: Factores anatomopatológicos asociados a mal pronóstico. CB: patrón de crecimiento de las áreas basaloides; CE: áreas de diferenciación escamosas; [¥]La tabla representa frecuencias y porcentajes salvo que se indique lo contrario; [#]Los porcentajes están calculados sobre el número de casos disponibles.

4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

4.1. Estudio inmunohistoquímico de los Casos

4.1.1. Valoración semicuantitativa de BerEp4, EMA y bcl-2

La valoración de estos marcadores tal como se describe en material y métodos mostró los resultados que aparecen en la tabla 18. En la escala semicuantitativa de BerEp4 (0-2) hubo 17 casos con valoración 0, 12 casos con valoración 1 y 13 casos con valoración 2. La media fue de 0,94 (desviación estándar=0,9). Para la escala semicuantitativa de EMA (2-0) se encontraron 23 casos con valoración 2, once casos con valoración 1 y 8 casos con valoración 0, resultando la media 1,32 (de=0,81). Por último la valoración semicuantitativa de bcl-2 (1-0) obtuvo los siguientes resultados: 20 casos valoración 1 y 22 casos valoración 0.

Imunohistoquímica	N (porcentaje)	Imunohistoquímica cualitativo	N (porcentaje)
BerEp4, n (%)		BerEp4, n (%)	
0	17 (40)	Negativo	17 (40)
1	12 (29)	Positivo	25 (60)
2	13 (31)		
EMA, n (%)		EMA, n (%)	
0	8 (19)	Positivo	19 (45)
1	11 (26)		
2	23 (55)	Negativo	23 (55)
bcl-2, n (%)		bcl-2, n (%)	
0	22 (52)	Negativo	22 (52)
1	20 (48)	Positivo	20 (48)

Tabla18. Valoración semicuantitativa y cualitativa de BerEP4, EMA y bcl-2.

4.1.2. Resultado de la puntuación obtenida en cada caso agrupando las tres categorías inmunohistoquímicas usando BerEp4, EMA y bcl-2

A continuación se muestra la figura 3 con la variable SCORE en 6 categorías (0,1,2,3,4,5). Seis casos obtuvieron puntuación 0, siete casos puntuación 1, siete casos puntuación 2, cinco casos puntuación 3, seis casos puntuación 4 y 11 casos puntuación 5. La media fue 2,74 (DE=1,82).

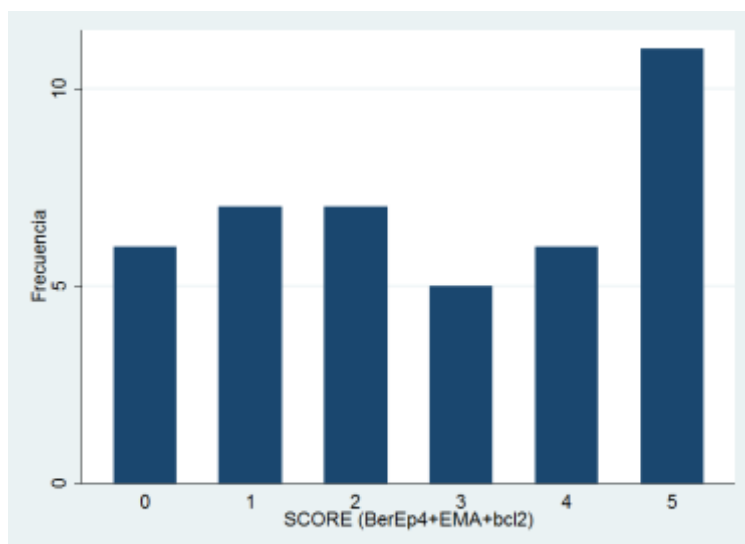


Figura 3: Valoración de la inmunotinción con BerEp4, EMA y bcl-2. SCORE: Puntuación obtenida tras la suma de los 3 marcadores en cada caso.

4.1.3. Agrupación de los casos por categorías inmunohistoquímicas

El fenotipo inmunohistoquímico resultante de la suma de los 3 marcadores resultó concordante con CE en 13 pacientes, se observó un patrón mixto en 12 casos y concordante con CB en 17 pacientes (Tabla 19 y figura 4)

Puntuación SCORE (3 cat.)	Fenotipo inmunohistoquímico	Nº casos (Porcentaje)
0-1	Carcinoma epidermoide	13 (31)
2-3	Patrón mixto	12 (29)
4-5	Carcinoma basocelular	17 (40)

Tabla 19. Resultados de la agrupación de los casos por categorías inmunohistoquímicas. Cat: Categorías.

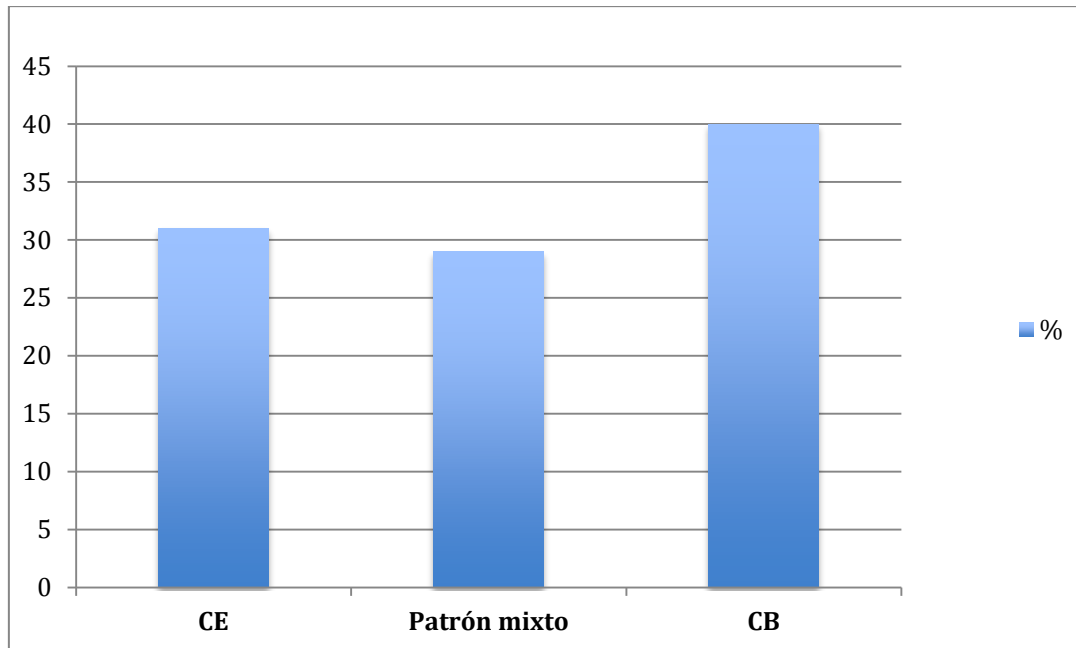


Figura 4. Resultados de la agrupación de los casos por categorías inmunohistoquímicas. CE: carcinoma epidermoide. CB: carcinoma basocelular.

4.1.4. Ki67

4.1.4.1. Número máximo de núcleos positivos

El conteo del número de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67 en las regiones de mayor proliferación de cada muestra obtuvo los siguientes resultados. El número máximo osciló entre 296 y 51 (mediana= 133,5: [p25-p75]=[87-186]). La agrupación de los casos por intervalos mostro que 16 casos presentaban entre 50-100 núcleos positivos, 9 casos entre 101-150 núcleos positivos, 8 casos entre 151-200 núcleos positivos, 4 casos entre 201-250 núcleos positivos y 5 casos más de 251 núcleos positivos. En la figura 5 se puede apreciar el histograma.

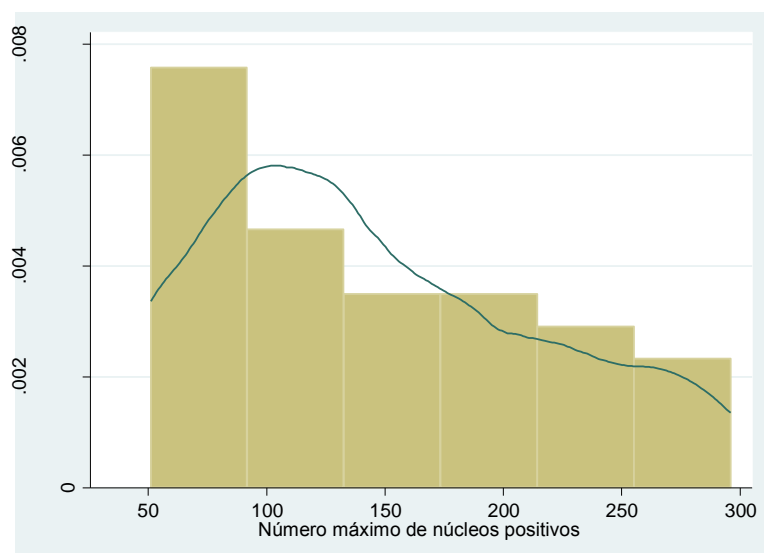


Figura 5: Número máximo de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67 en las regiones de mayor proliferación de cada muestra.

4.1.4.2. Media aritmética

Asimismo, se obtuvo un valor numérico correspondiente a la media aritmética resultante del conteaje de núcleos positivos de las zonas de máxima y mínima proliferación, respectivamente, para cada uno de los casos. Esta valoración media del índice de proliferación osciló entre 180,5 y 34, siendo la mediana (p25-p75) resultante de 82 (61,5-122). Tabla 20.

Número núcleos	ki67 máximo N (porcentaje)	ki67 medio N (porcentaje)
0-49	-	6 (14)
50-99	16 (38)	20 (48)
100-149	9 (21)	12 (29)
150-199	8 (19)	4(10)
200-249	4 (10)	-
250-max	5 (12)	-

Tabla 20. Número máximo y medio de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67.

4.1.5. CK17, CK 5/6 y 34BetaE12

La valoración de los 3 marcadores utilizados para citoqueratinas se realizó de forma semicuantitativa y mostró los resultados que se detallan en la tabla 21.

En el caso del marcador para CK5/6, 15 casos se valoraron como +++, 16 casos ++, 8 casos como + y 3 casos se consideraron (-). La valoración de la inmunoexpresión de 34BetaE12 mostró 29 casos con tinción +++, 7 casos con tinción ++, 6 casos con tinción + y ningún casos con tinción negativa.

En la valoración semicuantitativa de CK17, 19 casos mostraron tinción +++, 15 casos tinción ++, 8 casos tinción + y ningún caso tinción (-).

Citoqueratinas	N (porcentaje)
CK17, n (%)	
-	0
+	8 (19)
++	15 (36)
+++	19 (45)
CK5/6, n (%)	
-	3 (7)
+	8 (19)
++	16 (38)
+++	15 (36)
34BetaE12, n (%)	
-	0
+	6 (14)
++	7 (17)
+++	29 (69)

Tabla 21. Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de los 3 marcadores para citoqueratinas.

4.1.6. p16 y p63

La valoración del p16 mostró los siguientes resultados: 5 casos presentaron tinción +++, 2 casos ++, 21 casos + y 14 tinción (-). Tabla 22.

p16, n (%)	N (porcentaje)
-	14 (33)
+	21 (50)
++	2 (5)
+++	5 (12)

Tabla 22. Resultados de la valoración inmunohistoquímica del marcador p16.

En el caso de p63 se encontraron 15 casos con tinción +++, 16 casos con tinción ++, 8 casos con tinción + y 3 casos con tinción (-). Tabla 23.

p63, n (%)	N (porcentaje)
-	3 (7)
+	8 (19)
++	16 (38)
+++	15 (36)

Tabla 23. Resultados de la valoración inmunohistoquímica del marcador p63.

4.1.7. D2-40

Los resultados observados para la expresión de D2-40 mostraron únicamente 5 casos positivos (5/42), encontrándose en los 5 una expresión muy focal.

4.1.8. CD34

Las 42 muestras estudiadas mostraron negatividad para la tinción con CD34 en el estroma circundante.

4.1.9. Adipofilina

Todos los casos resultaron negativos para la tinción con adipofilina en los nidos o células tumorales.

4.2. Estudio Inmunohistoquímico de los Controles de Carcinoma Basocelular y Carcinoma Epidermoide

4.2.1. Carcinomas Basocelulares

La valoración de los distintos marcadores IHQ se realizó siguiendo los mismos criterios utilizados para los casos del estudio. Los resultados obtenidos en los controles de CB se resumen en las tablas 24, 25 y 26. Los 10 casos resultaron positivos para BerEp4, obteniendo todos una puntuación de 2 en la valoración semicuantitativa. De forma inversa la tinción con EMA fue negativa en todos ellos (puntuación de 0 en los 10 casos). Todos los casos fueron positivos para la tinción con bcl-2, CK17 (todos los casos valorados como +++ y p63; aunque en este último la valoración semicuantitativa mostró algunas diferencias (8 casos tinción +++ y 2 casos ++). En el caso de p16 se encontraron 2 casos negativos y 8 positivos: 4 se valoraron como + y 4 como ++. En cuanto al número de núcleos positivos para Ki67 los resultados fueron los siguientes: en la zona de máxima proliferación el número osciló entre 162 y 64 (mediana 108 y p25-p75 [97-143]), la media entre la zona de máxima y mínima proliferación del tumor osciló entre 119,2 y 53 (mediana 77,25 y p25-p75 [61,5-97]). Tabla 25 y figura 6.

Imunohistoquímica	N (porcentaje)
BerEp4, n (%)	
0	-
1	-
2	10 (100)
EMA, n (%)	
0	-
1	-
2	10 (100)
bcl-2, n (%)	
0	-
1	10 (100)

Tabla 24. Valoración semicuantitativa de BerEP4, EMA y bcl-2 para carcinomas basocelulares.

Número núcleos	ki67 máximo N (porcentaje)	ki67 medio N (porcentaje)
0-49	-	-
50-99	4 (40)	8 (80)
100-149	5 (50)	2 (20)
150-199	1 (10)	-
200-249	-	-
250-max	-	-

Tabla 25: Número máximo y medio de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67 en las regiones de mayor proliferación de cada muestra, para carcinomas basocelulares.

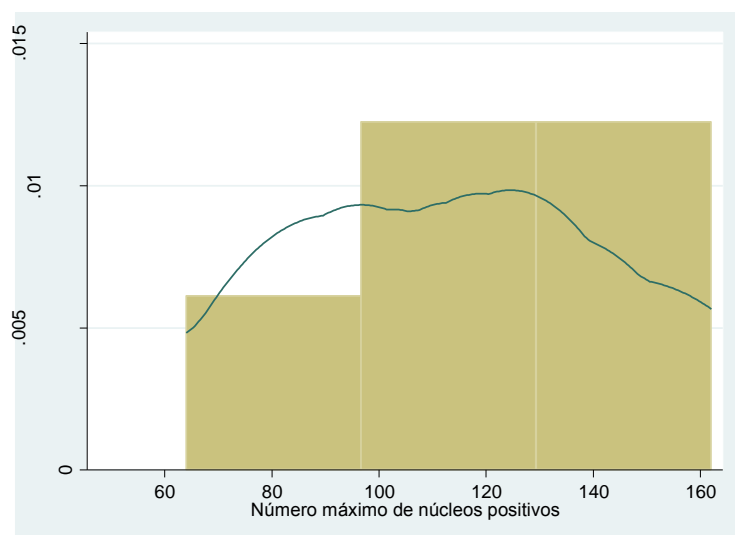


Figura 6: Número máximo de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67 en las regiones de mayor proliferación de cada muestra, para carcinomas basocelulares.

Citoqueratinas	N (porcentaje)
CK17, n (%)	
-	-
+	-
++	-
+++	10 (100)
p16, n (%)	
-	2 (20)
+	4 (40)
++	4 (40)
+++	-
p63, n (%)	
-	-
+	-
++	2 (20)
+++	8 (80)

Tabla 26. Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de CK17, p16 y p63 para carcinomas basocelulares.

4.2.2. Carcinomas Epidermoides

Los resultados de las distintas tinciones IHQ en los controles de carcinoma epidermoide se detallan en las tablas 27, 28 y 29. Los 10 casos control fueron negativos para la tinción con BerEp4 (puntuación 0 en todos ellos) y positivos para EMA. En el caso de EMA semicuantitativo, 5 casos obtuvieron valoración 0 y 5 casos valoración 1. La tinción para bcl-2 fue negativa en todos ellos. En los 10 casos se encontró algún grado de positividad para CK17: 2 casos valorados como +++, 7 casos como ++ y 1 caso como +. La valoración de p16 mostró 3 casos positivos: 2 valorados como ++ y 1 valorado como +. El marcador para p63 fue positivo en todos los casos (6 casos con tinción +++ y 4 con tinción ++). Por último la tinción nuclear con Ki67 mostró que el número de núcleos positivos en la zona de máxima proliferación de cada tumor osciló entre 136 y 53 (mediana 80,5 y p25-p75 [67-90]). La media de la zona de máxima y mínima proliferación de cada tumor se situó entre 88 y 37,5 (mediana 55,5 y p25-p75 [50-60,5]). Tabla 28 y figura 7.

Inmunohistoquímica	N (porcentaje)
BerEp4, n (%)	
0	10 (100)
1	-
2	-
EMA, n (%)	
0	5 (50)
1	5 (50)
2	-
bcl-2, n (%)	
0	10 (100)
1	-

Tabla 27. Valoración semicuantitativa de BerEP4, EMA y bcl-2 para carcinomas epidermoides.

Número núcleos	ki67 máximo N (porcentaje)	ki67 medio N (porcentaje)
0-49	-	2 (20)
50-99	8 (80)	8 (80)
100-149	2 (20)	-
150-199	-	-
200-249	-	
250-max	-	

Tabla 28. Número máximo y medio de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67 en las regiones de mayor proliferación de cada muestra, para carcinomas epidermoides.

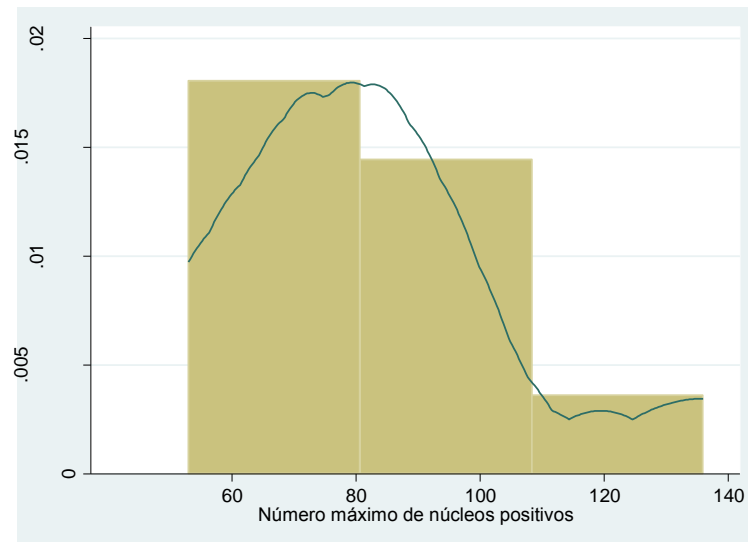


Figura 7. Número máximo de núcleos positivos para la inmunotinción con Ki67 en las regiones de mayor proliferación de cada muestra, para carcinomas epidermoides.

Citoqueratinas	N (porcentaje)
CK17, n (%)	
-	-
+	1 (10)
++	7 (70)
+++	2 (20)
p16, n (%)	
-	7 (70)
+	1 (10)
++	2 (20)
+++	-
p63, n (%)	
-	-
+	-
++	4 (40)
+++	6 (60)

Tabla 29. Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de CK17, p16 y p63 para carcinomas epidermoides.

4.2.3. Resultado de la puntuación obtenida en cada caso control agrupando las tres categorías inmunohistoquímicas usando BerEp4, EMA y bcl-2

En la tabla 30 se muestran las puntuaciones del SCORE en los controles de carcinomas epidermoides y carcinomas basocelulares. Los 10 controles de carcinoma epidermoide obtuvieron puntuación entre 0-1 (fenotipo concordante con CE) y los 10 controles de carcinoma basocelular puntuación de 5 (fenotipo concordante con CB).

Puntuación SCORE (3 cat.)	CE	CB
	Nº casos (Porcentaje)	Nº casos (Porcentaje)
0-1	10 (100)	-
2-3	-	-
4-5	-	10 (100)

Tabla 30. Resultados de la agrupación de los casos por categorías inmunohistoquímicas para carcinomas epidermoides y basocelulares. Cat: Categorías. CE: carcinoma epidermoide. CB: carcinoma basocelular.

4.3. Estudio comparativo entre los Casos y los Controles

4.3.1. Comparación de los distintos marcadores en su escala cualitativa

La comparación inicial de los distintos marcadores entre los 3 tipos de tumores de forma conjunta arrojó los siguientes resultados. Los marcadores IHQ en su forma cualitativa presentaron diferencias significativas entre los 3 tipos de tumores (carcinomas basocelulares, basoescamosos y epidermoides) para BerEp4, EMA y bcl-2. Para p16 no se encontraron diferencias significativas, como tampoco para p63. En el caso del CK17 no se pudo valorar, al resultar todos los casos positivos. Tabla 31.

	CBE		CB		CE		
Marcador	Nº casos +/- (valoración cualitativa)	% Positivos	Nº casos +/- (valoración cualitativa)	% Positivos	Nº casos +/- (valoración cualitativa)	% Positivos	P-valor
BerEp4	25/17	59,5%	10/0	100%	0/10	0%	0,000
EMA	19/23	45,2%	0/10	0%	10/0	100%	0,000
bcl-2	20/22	47,6%	10/0	100%	0/10	0%	0,000
CK17	42/0	100%	10/0	100%	10/0	100%	-
p16	28/14	66,7%	8/2	80%	3/7	30%	0,059
p63	39/3	92,9%	10/0	100%	10/0	100%	1

Tabla 31. Comparación de los resultados de cada uno de los marcadores IHQ usados entre los carcinomas basocelulares, basoescamosos y epidermoides. CBE: carcinomas basoescamosos, CE: carcinoma epidermoide. CB: carcinoma basocelular.

Como se ha mencionado en material y métodos también se realizaron **comparaciones por pares** según tipos de tumores entre los 3 marcadores que presentaban diferencias significativas en la tabla anterior: BerEp4, EMA y bcl-2. En este tipo de comparaciones múltiples el nivel de significación estadística no es del 5%, si no $0,05/3=0,017$.

La tabla 32 muestra los valores de significación para la comparación 2 a 2 entre los CB, CBE y CE cuando se estudian con **BerEp4**. Cuando comparamos BerEp4 entre los carcinomas basoescamosos y los basocelulares, obtenemos un valor de significación (p-valor) de 0,021. Con el nivel de significación estadística para comparaciones múltiples encontramos que los carcinomas epidermoides serían diferentes de los basocelulares y de los basoescamosos. Sin embargo los carcinomas basocelulares y los carcinomas basoescamosos no presentarían diferencias significativas.

BerEp4	Carcinomas Basoescamosos	Carcinomas Basocelulares	Carcinomas Epidermoides
Carcinomas Basoescamosos	-	0,021	0,001
Carcinomas Basocelulares	-	-	0,000
Carcinomas Epidermoides	-	-	-

Tabla 32. P-valor de la comparación 2 a 2 para el marcador BerEp4 entre los diferentes tipos de tumores.

La tabla 33 nos muestra los valores de significación para la comparación 2 a 2 para **EMA**. En este caso las 3 comparaciones de cada par, presentarían diferencias significativas al ser el p-valor menor que 0,017.

EMA	Carcinomas Basoescamosos	Carcinomas Basocelulares	Carcinomas Epidermoides
Carcinomas Basoescamosos	-	0,009	0,001
Carcinomas Basocelulares	-	-	0,000
Carcinomas Epidermoides	-	-	-

Tabla 33. P-valor de la comparación 2 a 2 para el marcador EMA entre los diferentes tipos de tumores.

La tabla 34 nos muestra los valores de significación para la comparación 2 a 2 para **bcl-2**. En este caso las 3 comparaciones de cada par, también presentarían diferencias significativas al ser el p-valor menor que 0,017.

bcl-2	Carcinomas Basoescamosos	Carcinomas Basocelulares	Carcinomas Epidermoides
Carcinomas Basoescamosos	-	0,003	0,008
Carcinomas Basocelulares	-	-	0,000
Carcinomas Epidermoides	-	-	-

Tabla 34. P-valor de la comparación 2 a 2 para el marcador bcl-2 entre los diferentes tipos de tumores.

4.3.2. Comparación cuantitativa de Ki67 entre los casos y los controles

Para representar el marcador Ki67 se utilizó la mediana y los cuartiles, independientemente de que se trate del máximo o la media, dado que su distribución es asimétrica. Las medianas más altas se observaron en los CBE, seguidas de los CB y por último se encuentran los CE. Para comparar los resultados entre los 3 tipos de tumores, se utilizó un test no paramétrico (test de Kruskal–Wallis). En la tabla 35 podemos observar que existen diferencias significativas entre los 3 tipos de tumores, tanto para el valor máximo (área de máxima proliferación), como para la media (p-valores menores que 0,05).

IHQ	CBE		CB		CE		p-valor ki67 max	p-valor ki67 medio
	Ki67 max	Ki67 media	Ki67 max	Ki67 media	Ki67 max	Ki67 media		
	mediana (p25-p75)	mediana (p25-p75)	mediana (p25-p75)	mediana (p25-p75)	mediana (p25-p75)	mediana (p25-p75)		
Ki67	133,5 (87- 186)	82 (61,5-122)	108 (97-143)	77,25 (61,5-97)	80,5 (67-90)	55,5 (50-60,5)	0,0061	0,0175

Tabla 35. Comparación entre los 3 tipos de tumores para el marcador Ki67-máximo y para el Ki67-media. CBE: carcinomas basoescamosos, CE: carcinoma epidermoide. CB: carcinoma basocelular.

4.3.3. Comparación de CK17 en su escala semicuantitativa entre los casos y los controles

Los resultados obtenidos para el marcador CK17 se detallan en la tabla 36. Los CB presentaron +++ en el 100% de los casos, mientras que los CE presentaron mayoritariamente ++ (70% de los casos). En el caso de los CBE, se observan resultados más variados, como se describió en el apartado 4.1.5. Cuando comparamos los 3 tipos de tumores, mediante la prueba χ^2 , observamos que existen diferencias significativas entre ellos.

CK17, n (%)	CBE	CB	CE	p-valor
+	8 (19)	-	1 (10)	0,003
++	15 (36)	-	7 (70)	
+++	19 (45)	10 (100)	2 (20)	

Tabla 36. Comparación entre los 3 tipos de tumores para el marcador CK17. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

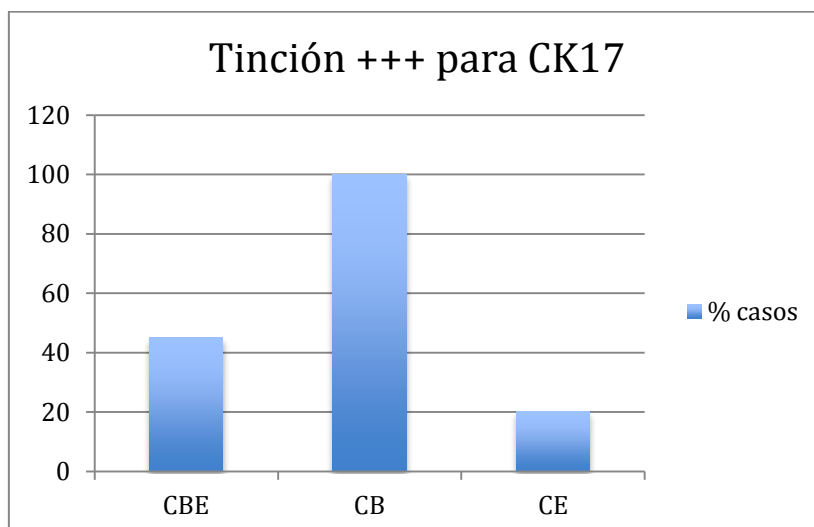


Figura 8: Porcentaje de casos con tinción +++ para CK17 en los 3 tipos de tumores. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

4.3.4. Comparación del SCORE entre los casos y los controles

Según se muestra en la figura 9, la puntuación media más alta fue para el grupo de los CB, con una media de 5. Los CBE mostraron un SCORE medio de 2,74 y los CE una media 0,5 (figura 9). Se compararon las puntuaciones del SCORE para los tres tipos de tumores, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ellos (tabla 37). Además se comprobó si 2 a 2 también existían diferencias entre ellos y en la tabla 38 se muestra como en la comparación por pares resultaron estadísticamente diferentes.

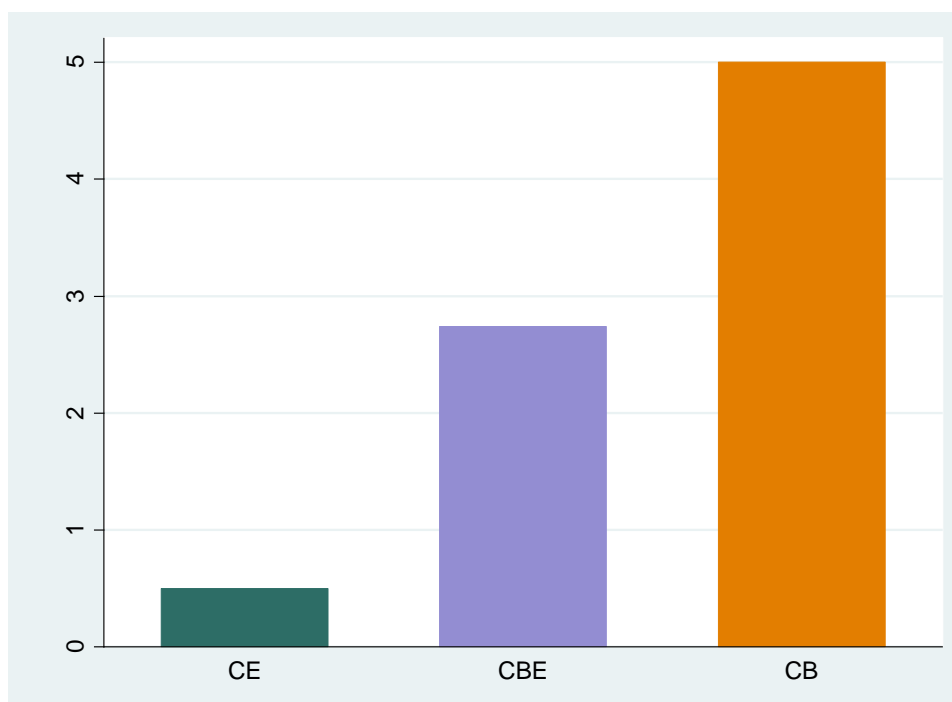


Figura 9. Comparación del SCORE entre los casos y los controles. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

	CBE	CB	CE	
Marcador IHQ	Media (DE) (Cuantitativo)	Media (DE) (Cuantitativo)	Media (DE) (Cuantitativo)	p-valor
SCORE	2,74 (1,82)	5,00 (0,00)	0,50 (0,53)	0,000

Tabla 37. Comparación entre los 3 tipos de tumores para el SCORE. CBE: carcinomas basoescamosos, CE: carcinoma epidermoide. CB: carcinoma basocelular.

SCORE	Carcinomas Basoescamosos	Carcinomas Basocelulares	Carcinomas Epidermoides
Carcinomas Basoescamosos	-	0,000	0,000
Carcinomas Basocelulares	-	-	0,000
Carcinomas Epidermoides	-	-	-

Tabla 38. P-valor de la comparación 2 a 2 para el SCORE entre los diferentes tipos de tumores.

4.3.4.1. Tasa de error del modelo discriminante

Se decidió evaluar la capacidad teórica del SCORE para discriminar o clasificar de forma correcta cada tumor en su grupo correspondiente.

Los resultados de la capacidad predictiva del SCORE se muestran en la tabla 39, utilizando los casos (42 carcinomas basoescamosos) y los controles (10 carcinomas epidermoides y 10 carcinomas basocelulares). Todos los CE mostraron SCORE 0-1 y todos los CB SCORE 4-5, por lo que el SCORE clasificó de forma correcta a todos los controles. Solo el 28,57% de los CBE presentaban un SCORE intermedio (2-3). El 30,95% presentaron SCORE 0-1 y el 40,48% SCORE 4-5. La tasa de error total es del 24%, aunque como se puede observar en la tabla 40 llega al 71% cuando se aplica solo a los CBE.

		Predicción			
		CE	Patrón mixto	CB	Total
Grupo Original*	CE	10	0	0	10
	%	100	0	0	100
	CBE	13	12	17	42
	%	30,95	28,57	40,48	100
	CB	0	0	10	10
	%	0	0	100	100
	Total	23	12	27	62
	%	37,1	19,35	43,55	100

Tabla 39. Resultados del análisis discriminante del SCORE. * Grupo original: casos de carcinomas basoescamosos y controles de carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

	Grupo			
	CE	CBE	CB	Total
Tasa de Error	0	0,71	0	0,24

Tabla 40. Resultados del análisis discriminante del SCORE, con la tasa de error. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

4.3.5. Comparación de la tasa de error discriminante entre los casos y los controles usando SCORE y CK17

De forma exploratoria se decidió usar el SCORE y el CK17 conjuntamente, para poder diferenciar los CBE de otros tumores o clasificar de forma adecuada cada tumor. La tabla 41 tiene los resultados de la matriz predictiva después de aplicar el análisis discriminante, y la tabla 42 las tasas de error. En general parece que predice mejor los CBE usando conjuntamente el SCORE y CK17, que si usáramos solamente el SCORE, sin embargo la tasa de error es algo superior del 25% porque clasifica como CBE un tumor CE.

		Predicción			
		CE	CBE	CB	Total
Grupo Original*	CE	9	1	0	10
	%	90	10	0	100
	CBE	11	15	16	42
	%	26,19	35,71	38,10	100
	CB	0	0	10	10
	%	0	0	100	100
	Total	20	16	26	62
	%	32,26	25,81	41,94	100

Tabla 41. Resultados del análisis discriminante del SCORE y CK17 de forma conjunta. * Grupo original: casos de carcinomas basoescamosos y controles de carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

	Grupo			
	CE	CBE	CB	Total
Tasa de Error	0,1	0,64	0	0,25

Tabla 42. Resultados del análisis discriminante del SCORE y CK17 de forma conjunta, con la tasa de error. CBE: carcinoma basoescamoso. CB: carcinoma basocelular. CE: carcinoma epidermoide.

5. CORRELACIÓN DEL COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO/PRONÓSTICO CON HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

5.1. Comparación de las características clínicas y anatomopatológicas de mal pronóstico

Se compararon las características clínicas de mal pronóstico (recidiva clínica y la indicación de tratamiento por recidiva) con las características anatomopatológicas de mal pronóstico (grado de diferenciación del área escamosa y el patrón de crecimiento del área basaloide). En ninguno de los casos se encontró asociación estadísticamente significativa.

En la tabla 43 se muestra la relación de la presencia de recidiva clínica en la evolución con el grado de diferenciación del área escamosa o de transición y en la tabla 44 la existencia de recidiva con el patrón de las áreas basaloideas. En ninguno de los 2 casos hubo asociación estadísticamente significativa.

Recidiva, n (%)	G1	G2	G3	Total	p-valor
No	8 (100)	11 (85)	2 (100)	21 (91)	0.598
Si	0 (0)	2 (15)	0 (0)	2 (9)	
Total	8 (100)	13 (100)	2 (100)	23 (100)	

Tabla 43. Comparación de las características clínicas y anatomopatológicas de mal pronóstico: Recidiva clínica y diferenciación escamosa.

Recidiva, n (%)	E	I	Total	p-valor
No	11 (92)	11 (79)	22 (85)	0.589
Si	1 (8)	3 (21)	4 (15)	
Total	12 (100)	14 (100)	26 (100)	

Tabla 44. Comparación de las características clínicas y anatomopatológicas de mal pronóstico: Recidiva clínica y patrón basaloide. E: Expansivo. I: Infiltrativo.

En las tablas 45 y 46 se compara la indicación de tratamiento por tumor recidivante con el grado de diferenciación de las áreas escamosas y el patrón de crecimiento de las áreas basaloideas, respectivamente. No se obtuvo asociación estadísticamente significativa en ambos casos.

Tx, n (%)	G1	G2	G3	Total	p-valor
P	10 (100)	14 (74)	3 (100)	27 (84)	0.23
R	0 (0)	5 (26)	0 (0)	5 (16)	
Total	10 (100)	19 (100)	3 (100)	32 (100)	

Tabla 45. Comparación de las características clínicas y anatomopatológicas de mal pronóstico: Indicación de tratamiento y diferenciación escamosa. Tx: Indicación de tratamiento. P: Tumor primario. R: Recidiva.

Tx, n (%)	E	I	Total	p-valor
P	15 (88)	15 (83)	30 (86)	0.528
R	2 (12)	3 (17)	5 (14)	
Total	17 (100)	18 (100)	35 (100)	

Tabla 46. Comparación de las características clínicas y anatomopatológicas de mal pronóstico: Indicación de tratamiento y patrón basaloide. Tx: Indicación de tratamiento. P: Tumor primario. R: Recidiva. E: Expansivo. I: Infiltrativo.

5.2. Comparación de las características clínicas de mal pronóstico con el SCORE

También se compararon las características clínicas de mal pronóstico (recidiva clínica y la indicación de tratamiento por recidiva) con el SCORE obtenido. En ambos casos las puntuaciones del SCORE entre los grupos no llegan a presentar diferencias estadísticamente significativas. Los resultados aparecen en las tablas 47 y 48.

Recidiva Clínica	Nº casos	Media SCORE	DE	p-valor
No	22	2.6	1.7	0.8568
Si	4	2.5	2.4	
Total	26	2.6	1.8	

Tabla 47. SCORE según las características clínicas de mal pronóstico: Recidiva clínica. DE: desviación estándar.

Indicación tratamiento	Nº casos	Media SCORE	DE	p-valor
Primario	30	2.7	1.9	0.4726
Recidiva	5	2	1.2	
Total	35	2.6	1.8	

Tabla 48. SCORE según las características clínicas de mal pronóstico: Indicación de tratamiento. DE: desviación estándar.

5.3. Comparación de las características anatomopatológicas de mal pronóstico con el SCORE

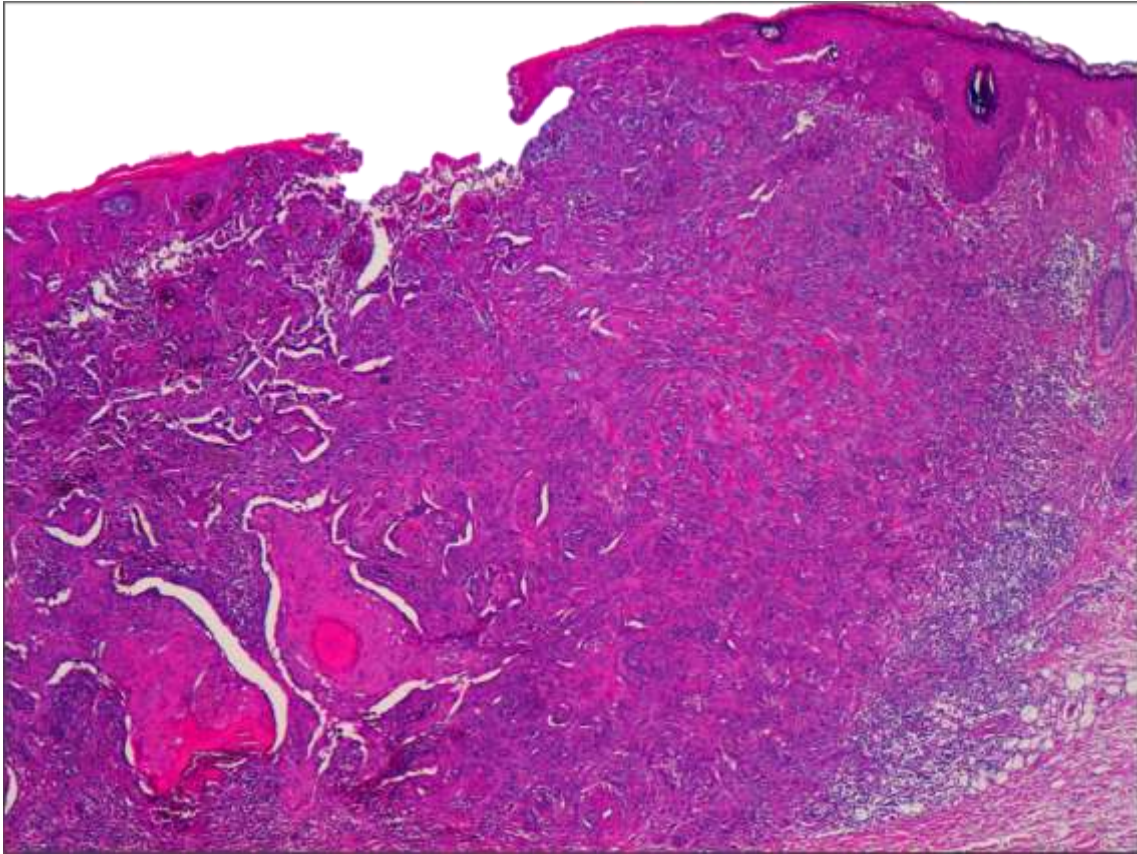
Por último, se compararon las características anatomopatológicas de mal pronóstico (grado de diferenciación del área escamosa y el patrón de crecimiento del área basaloide) con el SCORE. Respecto al patrón de crecimiento basaloide; la media del SCORE de los que mostraron patrón infiltrativo es superior y estadísticamente significativa, comparado con los de patrón expansivo (p-valor=0,0337). En el caso de la diferenciación escamosa no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Los resultados se muestran en las tablas 49 y 50.

Patrón Basaloide	Nº casos	Media SCORE	DE	p-valor
E	20	2.1	2	0.0337
I	21	3.4	1.5	
Total	41	2.8	1.8	

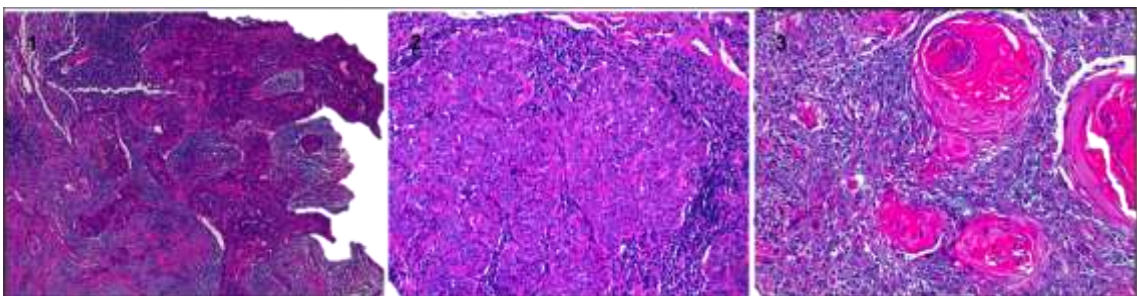
Tabla 49. SCORE según las características anatomopatológicas de mal pronóstico: patrón áreas basaloideas. DE: desviación estándar. E: Expansivo. I: Infiltrativo.

Diferenciación Escamosa	Nº casos	Media SCORE	DE	p-valor
G1	13	2.5	1.9	0.8544
G2	22	2.8	1.8	
G3	3	2.7	2.1	
Total	38	2.7	1.8	

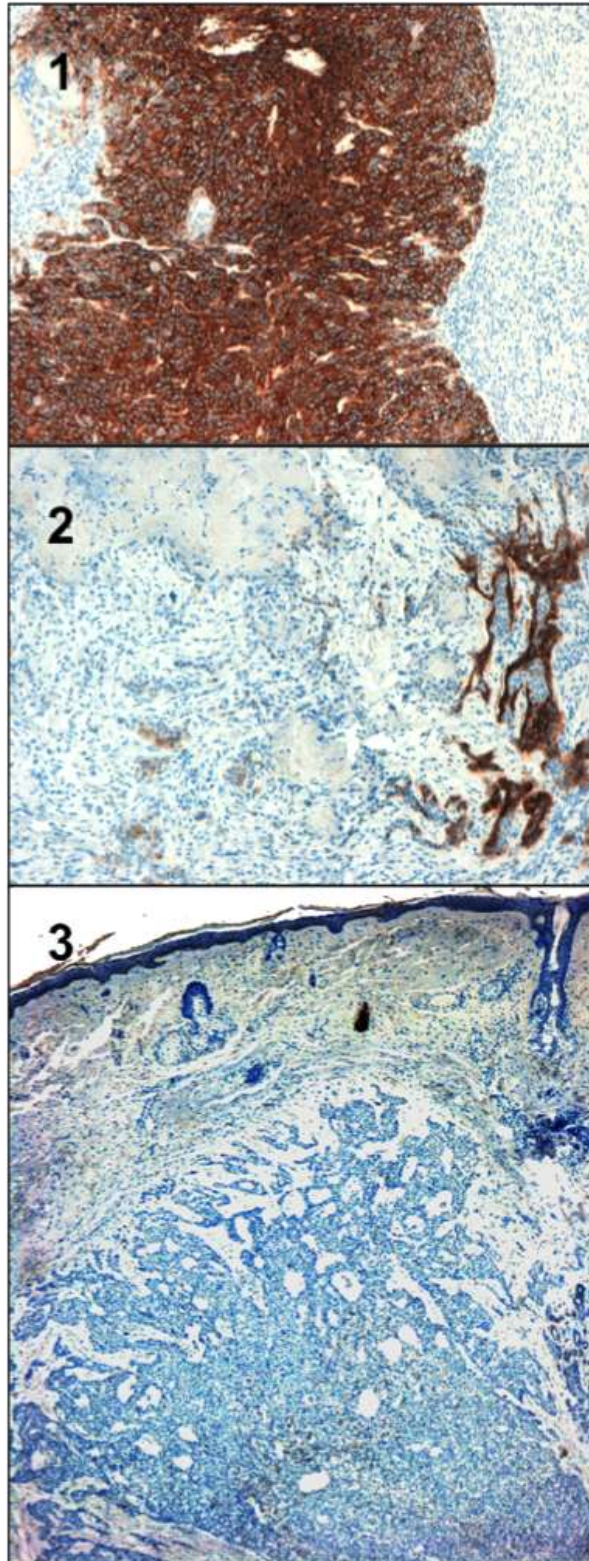
Tabla 50. SCORE según las características anatomopatológicas de mal pronóstico: diferenciación escamosa. DE: desviación estándar.



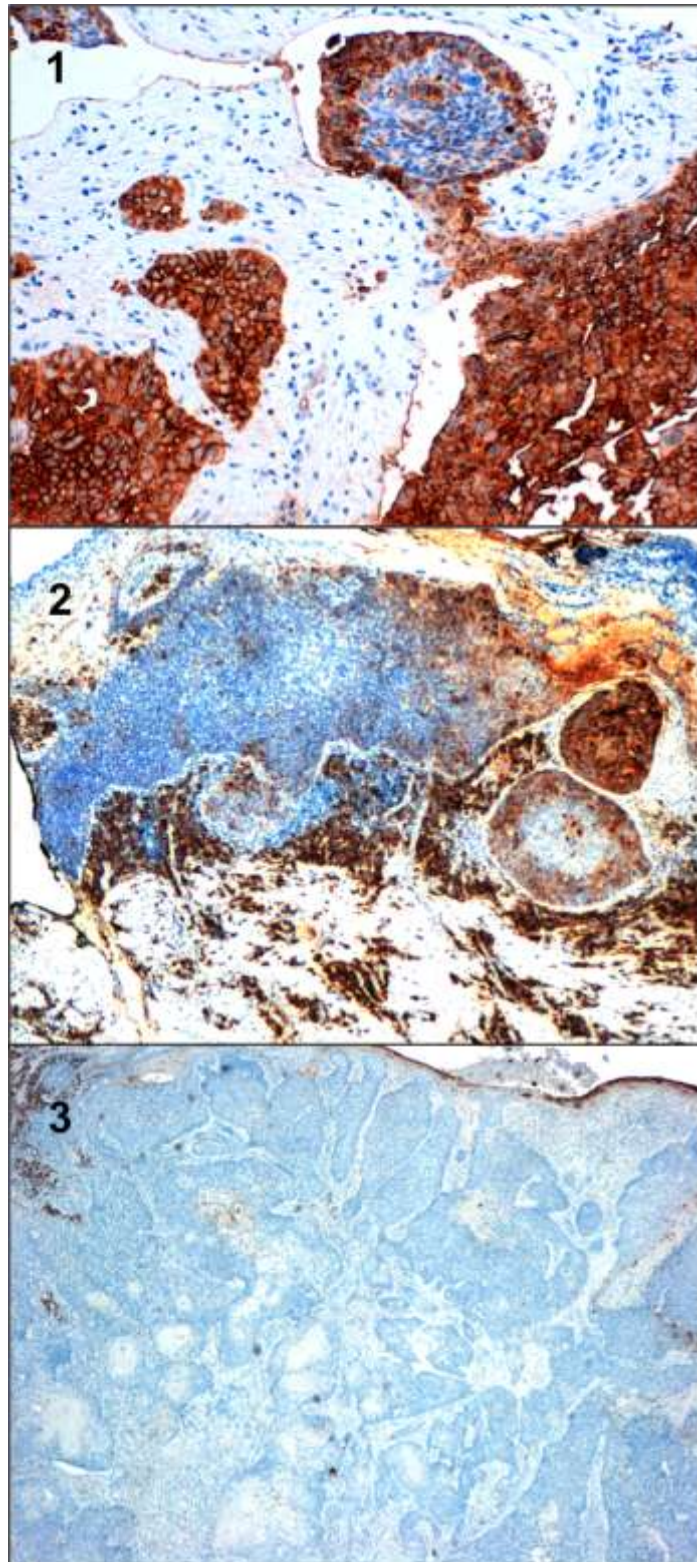
Carcinoma basoescamoso (H-E). Foto panorámica en la que se objetiva neoplasia cutánea con áreas de aspecto basaloide y áreas de diferenciación escamosa. A la derecha se observan áreas menos definidas (transicionales).



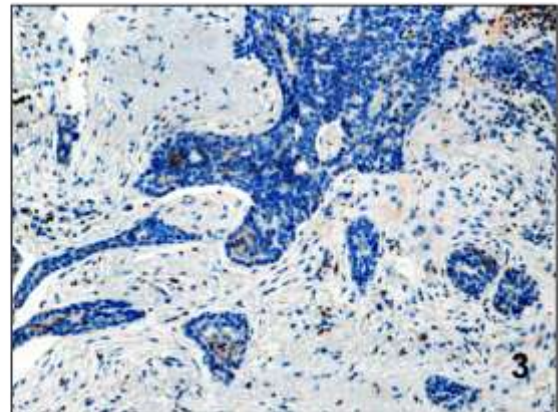
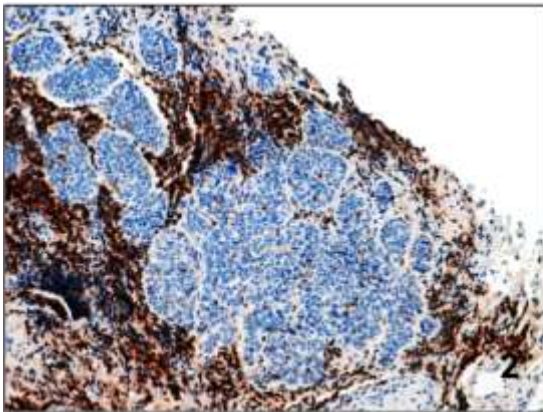
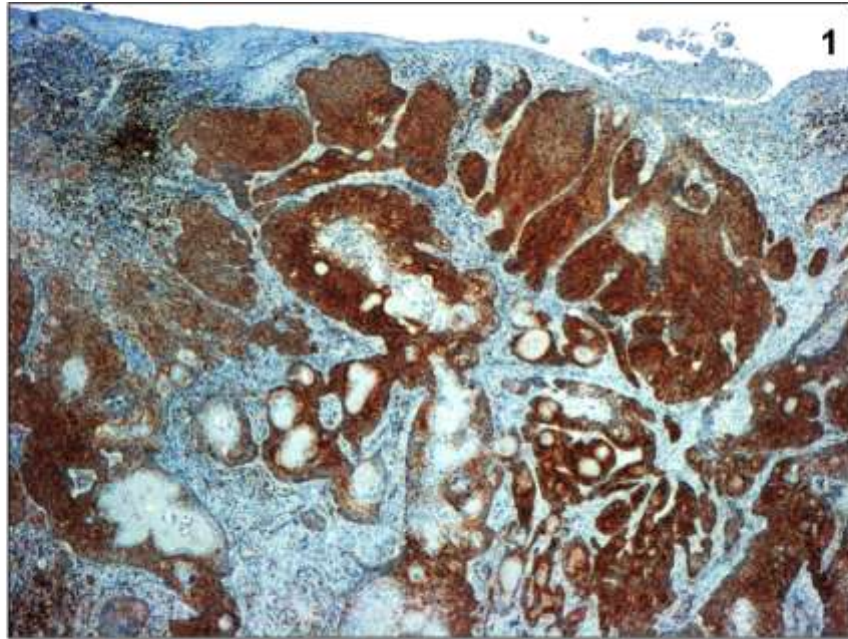
Carcinoma basoescamosos (H-E). Tres zonas del mismo tumor. 1: Areas de crecimiento con patrón basaloide, con hendidura artefactual con el estroma. 2: Nidos de células de aspecto transicional, no claramente definidas como basocelulares ni escamosas. 3: Patrón de crecimiento escamoso con formación de perlas córneas.



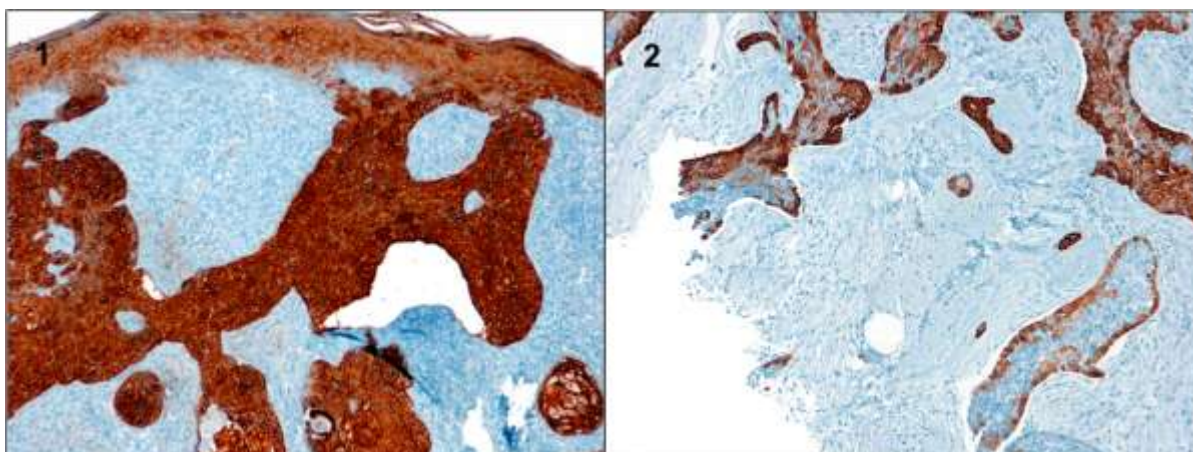
Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de **BerEp4**: 1: Tinción positiva clara difusa, con valoración "2". 2: Positividad parcheada, con valoración semicuantitativa "1". 3: Inmunotinción negativa (valoración semicuantitativa "0").



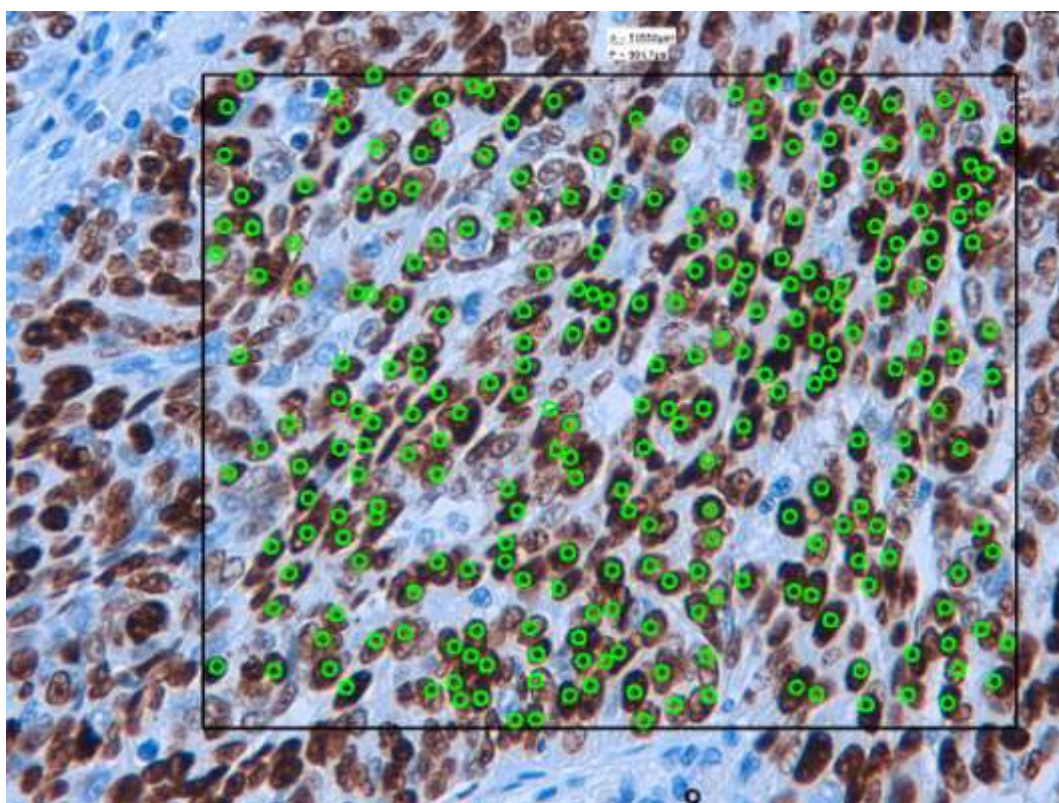
Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de **EMA**. 1: Positividad difusa clara de membrana con variable tinción citoplasmática (valoración semicuantitativa "0"). 2: Positividad focal sólo en áreas queratinizadas (valoración semicuantitativa "1"). 3: Inmunotinción negativa (valoración semicuantitativa "2"). Nótese el control interno positivo de las células inflamatorias y los queratinocitos superficiales.



Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de **bcl-2**. 1: Positividad intensa, clara (valoración semicuantitativa "1"). 2: Tinción negativa en nidos de aspecto más transicional (valoración semicuantitativa "0"). 3: Tinción negativa en áreas de aspecto más basaloide (valoración semicuantitativa "0").



Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de **CK17**. 1: Tinción positiva intensa y marcada en más del 90% de las células (valoración +++). 2: Tinción intensa y marcada entre el 50-90% de las células (valoración ++).



Método de cuantificación del marcador **Ki67**: Contabilización del número de núcleos positivos en un área de $50.000 \mu\text{m}^2$ a 400 aumentos usando el software y microscopio digital Leica, DMD 108.

V. DISCUSIÓN

1. PUNTO DE PARTIDA: QUÉ ES EL CARCINOMA BASOESCAMOSO?

El CCNM supone más del 90% de las lesiones malignas cutáneas. Desde un punto de vista epidemiológico engloba al CE y al CB, siendo este último el cáncer más frecuente del ser humano. Su incidencia continúa aumentando en los últimos años en todo el mundo. Aunque se asocie a una tasa muy baja de mortalidad se ha convertido en un importante problema de salud por el número de pacientes afectados y su morbilidad asociada.

En este contexto de elevada incidencia de CCNM resulta también de gran importancia una correcta subdivisión de este tipo de tumores. Una definición y diagnóstico histológico preciso nos permite poder predecir con mayor exactitud su comportamiento biológico y pronóstico asociado. Además del ya ampliamente descrito comportamiento diferenciado del CE y el CB, existen también grandes diferencias en cuanto a pronóstico y tratamiento requerido entre los diferentes subtipos histológicos de CB. Dentro de las entidades con fenotipo intermedio, el denominado carcinoma basoescamoso o metatípico constituye un ejemplo de entidad controvertida y no bien definida en la literatura. La falta de definición clínica y patológica del CBE impide conocer su comportamiento biológico y por tanto su pronóstico y tratamiento requerido⁴⁶. Esto constituye el valor del presente trabajo de investigación, en el que se analiza el comportamiento biológico de estos tumores y su relación con características histológicas, centrado en un estudio inmunohistoquímico extenso.

2. SELECCIÓN DE LOS CASOS:

La definición histológica propuesta por la OMS (*"CB asociado a áreas de diferenciación escamosa"*) puede parecer un poco imprecisa y aunque en la propia clasificación de la OMS luego se definen los criterios con mayor exactitud, abre la puerta a que el diagnóstico de CBE sea tanto infra como sobrediagnosticado. Esto conlleva que en realidad, probablemente no conozcamos la frecuencia real de este tipo de lesión. Como ejemplo, en este trabajo de investigación se han podido filtrar los casos que estaban sobrediagnosticados, pero nunca podremos saber cuántos casos de CBE se encuentran infradiagnosticados en las inmensas bases de datos del CCNM bajo el término de CE o CB. Por lógica, serán los CB de tipos más agresivos o con áreas focales de queratinización y los CE con distintos grados de diferenciación los que podrían elevar su frecuencia en estudios retrospectivos^{2,46}.

Conociendo de antemano las limitaciones en cuanto al diagnóstico de esta entidad, la selección inicial de la que se partió fue necesariamente todos los casos con diagnóstico de carcinoma basoescamoso o metatípico existentes en las bases de datos de los servicios de Anatomía Patológica. En lógica con lo expuesto anteriormente este número no fue el definitivo. De los 57 tumores codificados con este diagnóstico, la reevaluación histopatológica posterior confirmó un total de 42 casos finales. Esta exclusión de un 26,3% de casos puede explicarse por varios motivos; como la falta de consenso existente respecto a la definición histológica de este tumor, por la menor experiencia del patólogo en dermatopatología o por una combinación de ambas.

Como se ha mencionado previamente, la definición actual sería encontrar un CB con áreas de diferenciación epidermoide y zonas de transición entre ellas⁵⁰. Sin embargo no resulta fácil delimitar sin experiencia esta zona de transición y frecuentemente se incluyen dentro de este diagnóstico CB queratinizantes, verdaderos CE o tumores de colisión entre otros. Al igual que lo previamente descrito, de nuestros 15 casos excluidos, 7 fueron reevaluados como CB y 7 como verdaderos CE; encontrando incluso un caso que fue revaluado como porocarcinoma⁴⁶.

Al analizar el porcentaje de exclusión de casos en cada centro, cabe destacar las discordancia encontrada entre los 3 hospitales: 0% en el H120, 10% en el HUG y 56% en el HRyC. Tras revisar los casos iniciales existentes en las bases de datos, observamos que en H120 todos los casos fueron diagnosticados por un dermatopatólogo, en el HUG por 2 patólogos diferentes, en el HRyC, centro con mayor porcentaje de exclusión, fueron diagnosticados por

hasta 6 patólogos diferentes. Cuanto mayor sea el número de patólogos que diagnostican estos tumores, mayor es la posibilidad de que los criterios no sean homogéneos y de que sean patólogos no especializados los que emitan el diagnóstico.

3. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES:

3.1. Clínica

Las características clínicas de esta serie de pacientes coinciden de forma general con las habitualmente encontradas en los CB o en sentido más general con el CCNM: predominio en varones y aparición por encima de la cuarta o quinta década de la vida²⁸. Cabe destacar que en nuestra serie la proporción hombre-mujer fue 4:1; esta proporción es algo mayor a la habitualmente descrita para CCNM y sobre todo más marcada que la encontrada en trabajos previos sobre CBE. En las series más amplias en las que encontramos distribución por sexos se describen proporciones de 2:1 o 3:1^{50,53,58}.

En nuestro trabajo encontramos un 19% (8/42) de pacientes con alguna causa de inmunosupresión, siendo 3 de estos 8 pacientes receptores de transplante de órgano sólido, los cuales constituyen un grupo con elevado riesgo de desarrollo de CCNM. En un trabajo previo sobre CBE en este subgrupo de pacientes, se encontró una escasa incidencia de este tumor (datos similares a la población general) y un comportamiento biológico no tan agresivo como el descrito en otros estudios. Sin embargo, los autores no descartan la influencia del diagnóstico precoz a la hora de valorar los resultados, ya que este subgrupo de pacientes suele requerir un seguimiento dermatológico muy estrecho⁵⁵.

La mayoría de nuestros casos (hasta un 62%) presentaron antecedentes de CCNM previo. Como ya se ha comentado, el CBE es un tumor de difícil diagnóstico y poca frecuencia, por lo que este dato podría constatar el hecho de que los pacientes previamente diagnosticados de CCNM tienen un mayor seguimiento clínico, lo que conlleva una mayor detección de nuevos tumores y un mejor registro de los mismos⁶. Aunque el porcentaje de pacientes con diagnóstico de CB previo fue mayor, también fue considerablemente elevado el número de CE, siendo la proporción CB/CE algo menor a la descrita en la literatura. Nuestra proporción fue 2:1, mientras que en otras series fue de 4:1^{3,4} o 3:1, ambas coincidiendo con los últimos trabajos sobre CCNM publicados en nuestro país⁶. Proporciones más similares a la

nuestra se han descrito en poblaciones con una edad más avanzada y pertenecientes a un área geográfica con mayor tasa de exposición solar, tal como podría ocurrir en nuestro caso⁵.

En cuanto a la localización de las lesiones, un 66% de nuestros casos se localizaron en áreas de alto riesgo de recidiva. En la literatura previa se describe como localización habitual del CBE, cabeza y cuello (80%) con predominio de nariz y área centro facial (30%). Aunque en nuestra serie se podría observar un mayor número de casos en zonas de alto riesgo que en otros trabajos, el número limitado de casos y la escasa literatura existente hace imposible realizar una afirmación categórica en este aspecto^{46,53}.

El análisis de otras características clínicas del tumor como tamaño previo a la cirugía, presencia de ulceración o tiempo de evolución no objetivó ningún dato relevante o diferente a lo que se observa en el caso de los CB. El diagnóstico clínico de sospecha fue CB en un 64% de los casos y CE en un 28%. Como se reseña de forma unánime en todos los trabajos previos, este tumor no tiene una presentación clínica específica por lo que nunca se realiza un diagnóstico clínico previo del mismo. Al igual que en nuestros casos la mayoría de ellos son diagnosticados de CB o CE (este último en menor medida)⁵³.

En general, al tratarse de un estudio retrospectivo, encontramos dificultades a la hora de obtener toda la información clínica de los casos. Esta falta de información en la historias clínicas, probablemente sea más relevante para aquellos datos que podrían arrojar más luz sobre el pronóstico o comportamiento biológico de estos tumores, como son: el tratamiento realizado o tipo de extirpación, margen quirúrgico, tiempo de seguimiento clínico y presencia de recidiva en el seguimiento.

3.2. Comportamiento biológico

En cuanto al comportamiento biológico, se analizaron 3 factores como datos de mal pronóstico de los tumores: la indicación previa de cirugía por tumor recidivante, la presencia de recidiva en el seguimiento y la aparición de metástasis^{46,50,51}.

La indicación de tratamiento por recidiva de tumor previo no puede considerarse en sí un dato de peor comportamiento biológico, ya que depende de la eficacia intrínseca del tratamiento previo realizado o de la técnica empleada (ej. bordes afectos tras cirugía). Aún así, se decidió incluir en los análisis estadísticos posteriores para poder estudiar de forma más

exhaustiva todas las características de los casos, siendo en nuestra serie un 14% de los mismos.

En nuestra serie se objetivaron 4 recidivas en el seguimiento clínico, lo que supone un 11,7% de los casos. Al analizar en profundidad estos pacientes, se objetivó en el estudio anatomopatológico (H-E) que uno de estos casos presentaba afectación de borde quirúrgico profundo. Por tanto, este dato nos obliga a considerar de forma diferente los resultados obtenidos, y valorar sólo 3 de los casos como recidivas en el contexto de su relevancia en cuanto al comportamiento biológico del tumor. Así, finalmente consideramos para la discusión que la tasa real de recidivas encontrada en nuestra serie fue de un 9%.

En cuanto a los 3 casos que presentaron recidivas, llama la atención que los 3 fueron mujeres, cuando solo hubo 8 casos en el total de la muestra. Dos de ellas presentaban inmunosupresión (LLC y transplante renal respectivamente) lo que ya conlleva un peor pronóstico en cualquier CCNM. También llamaría la atención que 2 de ellos se situaron en extremidades inferiores (área de riesgo medio de recidiva), pero uno de los casos se trataba de un tumor de gran tamaño (30mm) y el otro se produjo en la paciente transplantada. Tras valorar estos factores de mal pronóstico, consideramos que la tasa de recidiva no sería significativamente mayor a la descrita en series de CB convencionales¹³.

La comparación con los trabajos existentes sobre CBE se ve dificultada por su escaso número y diferente metodología, pero en algunos sí han descrito tasas significativamente mayores de recidivas (16%)⁵⁸, incluso tras cirugía de Mohs (4.1-8.9%)^{50,51,60}.

Aunque en algún trabajo previo se describe una tasa mayor de metástasis para los CBE que los CB e incluso los CE, en nuestros casos no se registró ninguna metástasis^{50,55,58,62}. Por lo tanto se puede concluir que en nuestra serie no se ha objetivado un comportamiento biológico más agresivo que el de otros subtipos de CB.

3.3. Hallazgos anatomopatológicos convencionales (Hematoxilina-Eosina)

En el estudio anatomopatológico de las piezas quirúrgicas se objetivó afectación de bordes en un 23% de las extirpaciones simples. Este dato no puede valorarse de forma significativa ya que no se puede excluir la existencia de una técnica quirúrgica inadecuada o la falta de homogeneización de criterios quirúrgicos. Aún más, cuando se trata de un estudio multicéntrico y las extirpaciones fueron realizadas por diferentes cirujanos incluso dentro de los distintos hospitales.

La valoración de factores histopatológicos de mal pronóstico no arrojó conclusiones relevantes. Se ha descrito una mayor frecuencia de patrón de crecimiento infiltrativo en las áreas basaloides², pero en nuestra serie se encontró casi el mismo número de casos con patrón infiltrativo que expansivo al analizar dichas áreas. El componente de transición o epidermoide tampoco mostró datos significativos y sólo un 8% se valoraron como pobremente diferenciados (G3).

4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUÍMICO

4.1. BerEp4, EMA y bcl-2

El estudio de estos 3 marcadores inmunohistoquímicos, bien sea de forma aislada, conjunta o en forma de SCORE, es sin duda el factor más relevante para este trabajo de investigación. Entre las razones que lo justifican se encuentra la gran cantidad de literatura publicada sobre el diagnóstico diferencial entre CB y CE que está basada en estos 3 anticuerpos. Existe un alto consenso en cuanto a los resultados esperables con dichas tinciones para los diferentes tipos de CCNM. Para los CB convencionales se considera que la tinción con BerEp4 siempre es positiva y EMA negativa (salvo zonas escamosas de CB queratósicos). Se deben esperar hallazgos contrarios para BerEp4 y EMA en el caso de los CE^{10,11}. En el caso de bcl-2 aunque existe algo más de variabilidad, la mayoría de estudios y la práctica habitual considera este marcador positivo en los CB y negativo o débilmente positivo en los CE^{18,19,20,38}. El CB y el CE son los diagnósticos diferenciales principales del CBE y por eso el estudio de estos 3 marcadores se considera imprescindible. Como consecuencia de todo ello, se consideró de gran importancia intentar filiar la naturaleza inmunohistoquímica del CBE, y tratar de clarificar si asemejaba más a un CB, a un CE, a ambos o a una forma intermedia de los mismos.

En las pocas series de CBE el estudio de estos 3 marcadores ha sido aislado, no habiéndose encontrado ninguna con la evaluación de todos ellos^{11,56,57}. Este estudio completo, junto con la dificultad de conseguir series amplias de CBE dan un valor añadido al presente trabajo.

Con objeto de intentar discriminar mejor entre los CCNM (CB, CE y CBE), 2 de estos 3 marcadores fueron subdivididos en una escala semicuantitativa de 0 a 2 (BerEP4 y EMA). Además, para facilitar la comprensión hacia un lado del espectro u otro el marcador EMA se puntuó en sentido inverso. El marcador bcl-2 es menos discriminatorio y únicamente fue subdividido en positivo o negativo (0 o 1).

Otro de los aspectos que se añadió a este trabajo es la determinación de un SCORE usando estos 3 anticuerpos. Dado que era esperable que el CB y el CE fuesen formas polares al evaluarlos inmunohistoquímicamente, el propósito del mismo fue investigar si el CBE, como grupo o como casos aislados, presentaba una inmunotinción diferente o similar a estos dos polos del espectro. Sin embargo, resultaba imprescindible constatar con controles de CB y CE, que efectivamente existía una clara distinción entre los mismos cuando se usaba dicho SCORE.

Los resultados con BerEp4, EMA y bcl-2 en los controles de CB y CE dejan patente que los 2 tumores muestran un perfil inmunohistoquímico claramente diferente. Todos los CB mostraban intensa positividad frente a BerEp4 (puntuación 2) y bcl-2 (puntuación 1), y negatividad frente a EMA (puntuación 0). En el polo opuesto, todos los CE mostraron negatividad frente a BerEp4 y bcl-2 (puntuación 0) y positividad frente a EMA, aunque en no todos los casos fue difusa e intensa (puntuación 0 o 1). Nuestros resultados son equiparables al estudio inmunohistoquímico descrito previamente de CB y CE. El SCORE en nuestros CB fue 5 (polo de inmunohistoquímica tipo “carcinoma basocelular”), y en los CE de 0,5 (casi en el extremo inmunohistoquímico tipo “carcinoma epidermoide”). De ello se desprende que el punto de partida para valorar los resultados inmunohistoquímicos de esta serie de CBE es válido y posiblemente extrapolable. Una crítica que podría hacerse a este punto es que nuestros controles de CB y CE eran casos claros de diagnóstico no dudoso. Pero el objetivo era buscar una inmunohistoquímica bien definida para ambos espectros.

Cabe destacar los resultados obtenidos en el análisis semicuantitativo de EMA para los controles de CE. Como se acaba de mencionar, aunque el 100% de los casos resultaron positivos, no todos obtuvieron puntuación 0 en la escala semicuantitativa (la media fue 0,5). Teniendo en cuenta que los controles escogidos fueron CE bien diferenciados y de fácil

diagnóstico en cortes de H-E, este hallazgo nos planteó que EMA no sea un marcador de valoración tan fácilmente extrapolable o reproducible. Al analizar estudios previos sobre la valoración de EMA en CE cutáneos, aunque se describe en general una positividad del mismo en los CE cutáneos, no se describe de forma clara cómo se cuantifica o se evalúa el grado de positividad^{11,24,36}. En un estudio comparativo con carcinomas sebáceos en los que encuentran un 90% de CE claramente positivos para EMA, sí describen los métodos de cuantificación, considerando el límite mayor de la misma (++) a un 31% o más de células tumorales positivas⁶⁵. Nuestros resultados y la revisión de la literatura nos hace concluir que aunque EMA sigue resultando un marcador claramente útil para la diferenciación entre CB y CE, quizás deba valorarse como positivo aunque no encontremos una tinción tan clara y difusa como la que habitualmente esperaríamos para BerEp4 en el caso de los CB²⁴.

En la evaluación de esta serie de CBE se encontró una inmunotinción muy heterogénea para los 3 marcadores inmunohistoquímicos. BerEp4 fue negativo en el 40% de los casos. De los casos positivos, algo más de la mitad mostraron una positividad intensa (31%) y solo 12 casos (29% del total) mostraron una positividad focal categorizada como 1, que sería el valor medio de la valoración del mismo. La puntuación media de BerEp4 fue de 0,94 (DE 0,9), reflejando la dispersión de este valor. Un 45% de los casos fueron marcadamente positivos frente a EMA. La media de esta valoración fue de 1,32 (DE 0,8). Al igual que sucede con BerEp4, los valores son muy dispersos y sólo un 26% de los casos mostró una positividad intermedia. La tinción con bcl-2 fue positiva en el 48% de los casos.

En la comparación de estos 3 marcadores con los controles de CB y CE se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos de tumores. En la comparación 2 a 2 de cada marcador según los tipos de tumores también se alcanzó el grado de significación estadística, a excepción de la puntuación de BerEp4 entre CBE y CB que no resultó estadísticamente significativa. Esto cuadra con los trabajos previos en los que se describe en los CBE una positividad para BerEp4 aunque con tendencia a la pérdida parcial⁴⁶.

La interpretación pormenorizada de estos valores arroja 2 conclusiones paradójicas. Por un lado, parece claro que la serie de CBE es distinta a los CB y CE. Sin embargo, son una minoría de casos los que se sitúan en la valoración media del espectro, y por tanto estos 3 marcadores no parecen presentar valor diagnóstico para cada caso en concreto.

4.2. SCORE y categorías inmunohistoquímicas

Como se ha explicado previamente se decidió asignar un SCORE o puntuación a cada caso sumando los resultados semicuantitativos de los 3 marcadores anteriores: BerEp4, EMA y bcl-2.

No se realizó previamente una validación de este SCORE en casos de CB y CE por varias razones. La razón más importante radica en que este SCORE constituye una de las partes más novedosas de este trabajo de investigación; pero también por la amplia literatura existente sobre estos marcadores evaluados de forma independiente en este tipo de tumores cutáneos. Por esto, asumimos la validez teórica de este SCORE para definir los diferentes fenotipos o categorías inmunohistoquímicas. Sin embargo, como se ha mencionado, sí se consideró de gran valor realizar el estudio inmunohistoquímico en una serie limitada de controles de CB y CE para poder contrastar nuestros resultados en las mismas condiciones de laboratorio, misma técnica y tipo de anticuerpos. De esta manera, aunque no pueda aportar directamente una clara potencia estadística al estudio sí permite consolidar y validar nuestros resultados.

En cuanto a los resultados observados para el SCORE en los CBE también nos encontramos una amplia variabilidad de puntuaciones. Un 40% presentaron fenotipo inmunohistoquímico compatible con CB (puntuación 4-5), un 29% un patrón mixto (puntuación 2-3) y un 31% fenotipo compatible con CE (puntuación 0-1), lo que resultó un SCORE medio de 2,74 (DE=1,83).

Ya que los resultados obtenidos en los controles sí parecen demostrar de forma clara una validez teórica del SCORE en su capacidad de discriminar CB y CE, también se realizó el análisis del mismo entre los 3 tipos de tumores. Tanto la comparación de los 3 grupos como la comparación por pares mostró diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

Aunque nuevamente observamos diferencias en el fenotipo de los CBE como grupo, era necesario evaluar la capacidad predictiva del SCORE para clasificar a cada tumor de forma individual. La tasa de error total fue del 24%, dato que aisladamente se podría considerar bajo, pero si lo aplicamos sólo al grupo de los CBE llegó a ser de hasta el 71%. Encontramos que discrimina bien a los CB y los CE (como ya se había contrastado previamente), pero predice como CB un 40% de los CBE y como CE un 31% de los mismos.

Con todos estos resultados observamos una gran heterogeneidad en las características inmunohistoquímicas de nuestros casos, aunque todos ellos fueron seleccionados por haber

recibido el diagnóstico anatomopatológico de “carcinomas basoescamoso” o “metatípico” mediante H-E. Este hecho que concuerda con la falta de unificación de criterios histopatológicos a la hora de definir este tumor⁵².

También hay que destacar que hasta un 60% de los casos no mostraron un fenotipo inmunohistoquímico esperable para un CB (SCORE 4-5). Aunque la mayor parte de las guías y manuales de referencia clasifican a los carcinomas basoescamosos como un subtipo de CB, las guías de la NCCN de 2007 lo consideran un subtipo histológico de carcinoma epidermoide en base a su teórico potencial metastásico, lo que sigue demostrando la falta de unificación de criterios diagnósticos y incluso controversias en cuanto a su verdadera naturaleza^{2,45}.

Como interpretación de nuestro estudio podemos concluir que al igual que ocurre con los 3 marcadores de forma individual, el SCORE no es capaz de clasificar o diagnosticar de forma adecuado a cada caso aislado de CBE, aunque sí demuestre diferencias en la valoración de la serie como grupo global. Una posible interpretación de todo ello sería que en la serie de tumores de CBE podrían agruparse hasta tres subtipos de lesiones, casi balanceadas en su frecuencia:

- CBE con expresión IHQ similar al CE.
- CBE con expresión IHQ similar al CB.
- CBE con expresión IHQ intermedia o discordante entre ambos grupos.

En este sentido, sería necesarios nuevos trabajos de investigación para apoyar esta idea.

4.3. Ki67

En cuanto a la valoración de Ki67, se ha encontrado gran variabilidad en cuanto al índice de proliferación de los CB. En trabajos previos no se ha podido encontrar una correlación clara entre el índice de proliferación y los subtipos histológicos más agresivos, aunque en algún estudio sí se ha encontró mayor tasa de proliferación, medida mediante Ki67, en tumores recurrentes^{26,27}.

Como hemos observado con otros marcadores, también el índice de proliferación fue muy variable en nuestros casos. Cuando se compararon los CBE con los otros 2 grupos de tumores se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los 3, tanto para la puntuación del área de máxima proliferación como para el valor medio de proliferación. Hay que destacar que la medición mayor de Ki67 fue en los CBE, hecho también observado en otros

trabajos⁶⁶, aunque como ya se ha mencionado se desconoce la relación real entre la tinción con Ki67 y el subtipo histológico o comportamiento del CCNM. Incluso los controles de CB mostraron mayor proliferación que los CE. Este hecho podría explicarse por un sesgo de selección, ya que se eligieron como controles CE de diagnóstico muy claro con H-E y en consecuencia se trató de tumores muy bien diferenciados. Al tratarse de pocos casos de CB y CE no pueden sacarse conclusiones definitivas y resultados similares se han descrito en trabajos previos⁶⁷. Sin embargo, podría apuntarse, que al menos en nuestra serie, los CBE representan un grupo de CCNM con mayor proliferación que los CB y los CE convencionales y bien diferenciados.

Al igual que lo previamente descrito para otros marcadores, en nuestra serie no hemos podido encontrar ninguna relación significativa entre el índice de proliferación de los tumores, medido mediante Ki67, y su comportamiento biológico. Tampoco se observó correlación con un fenotipo inmunohistoquímico concreto.

4.4. CK17

La tinción con CK17 mostró positividad en todos los casos, pero con bastante variabilidad en cuanto a intensidad y extensión de la inmuoexpresión. Esta tinción fue claramente positiva en un 45% de los casos, encontrándose pérdida de la misma en el porcentaje restante.

La CK17 se expresa de forma habitual en epidermis palmoplantar, en glándulas sudoríparas y sebáceas y en el folículo piloso. En diversos artículos se ha relacionado con tumores foliculares o de supuesta diferenciación folicular; como el carcinoma triquilemal, el tricoblastoma y el tricoepitelioma^{68,16}. También es un marcador cuya positividad ha demostrado utilidad para la diferenciación de epitelios displásicos y carcinomas de mucosa oral y cérvix^{69,70}.

La positividad marcada de los CB para CK17 ha sido descrita en diferentes estudios. Esta inmunotinción parece mantenerse en los diferentes subtipos, independientemente de su agresividad, e incluso ha demostrado utilidad para la detección de células aisladas o para la diferenciación de otros tumores anexiales^{16,71}.

En el caso del CE cutáneo no hemos encontrado estudios que analicen la inmuoexpresión de CK17 de forma precisa⁷². De forma excepcional, se describió en un trabajo

negatividad o positividad en muy bajo porcentaje de CK17 en 10 casos de CE cutáneo de células claras⁷³. Resulta llamativo que en uno de los muy escasos trabajos que estudian la inmunohistoquímica de los carcinomas basoescamosos o metatípicos, describen una disminución clara de la expresión de CK17 en 10 carcinomas metatípicos al compararla con la observada en CB convencionales⁵⁷.

En base a lo expuesto anteriormente se decidió analizar con mayor detenimiento los resultados de este marcador en nuestro estudio. De forma totalmente exploratoria se evaluó en cada caso la tinción encontrada para CK17 y se comparó con el SCORE o fenotipo IHQ. Aunque no encontramos unos hallazgos claramente significativos, sí observamos una tendencia. De los 19 casos con tinción clara positiva, valorada como (+++) en la escala semicuantitativa, un 79% obtuvieron un SCORE 4-5, fenotipo concordante con CB. De los 23 casos en los que observamos cierta pérdida de tinción con CK17 (-, + o ++), hasta un 91% de los mismos presentaron un fenotipo IHQ mixto o compatible con CE (SCORE 0-3). Estos hallazgos parecen ir en la línea de lo hasta ahora descrito en la literatura, que consiste en una positividad difusa e intensa de todos los CB y una pérdida de tinción en los CBE. Por supuesto hay que tener en cuenta que sólo un estudio previo valora CK17 en CBE y que en general existe muy poca literatura que describa este marcador en CE⁵⁷.

Con la misma idea y una vez comprobado que la tinción con CK17 era diferente entre los casos y los controles de CB y CE, se quiso evaluar si este marcador podía mejorar el diagnóstico de estos tumores. Se realizó de forma exploratoria un análisis de la capacidad predictiva del SCORE añadiendo la valoración del marcador CK17. En este caso la tasa de error para el grupo de CBE disminuye a 0,64, por lo que podría ser de utilidad para clasificar de forma más adecuada a los mismos. Sin embargo la tasa de error global es superior al 25%, por lo que no podría considerarse un modelo válido de estudio, por clasificar un caso de CE como CBE.

Finalmente, aunque no podamos realizar conclusiones definitivas, consideramos que podríamos encontrarnos ante un marcador inmunohistoquímico interesante sobre el que basar futuros trabajos. Ya que su positividad parece altamente demostrada en CB convencionales, el mayor interés científico radicaría en su inmunoexpresión en CE debido la falta de estudios previos publicados sobre CE cutáneo. Y por supuesto, también en aquellos casos de CCNM de difícil diagnóstico con H-E, ya que como previamente hemos descrito, en nuestra serie de casos observamos una tendencia a la pérdida de CK17 en aquellos casos con un SCORE o fenotipo IHQ mixto o compatible con CE.

4.5. p16

La proteína p16, implicada en la regulación del ciclo celular, se relaciona con múltiples cánceres y entre ellos el CCNM. Se ha demostrado su expresión en CB aunque en porcentajes variables^{20,25,74,75}. En queratosis actínicas y CE también se ha descrito ampliamente la presencia de este marcador, al igual que en piel expuesta a RUV. En alguno trabajo se ha observado una relación entre el aumento de expresión de p16 y la progresión desde queratosis actínica a CE in situ y CE invasivo⁷⁶. En cambio, en otros estudios no se han encontrado diferencias significativas en la expresión de p16 entre CE, queratoacantomas y queratosis actínicas⁷⁷. Al comparar directamente CB y CE, se han publicado trabajos en los que encuentran mayor expresión de p16 en CE y correlación con la mayor diferenciación de los mismos²⁰. Aún así, teniendo en cuenta la disparidad de los trabajos previos y las controversias encontradas, partimos de la base de que no se han podido demostrar diferencias definitivas en la expresión de p16 entre CB y CE^{10,25}.

Cuando analizamos nuestros resultados nos encontramos que hasta un 33% de los casos de CBE resultaron negativos para la tinción con p16. Si sumamos los casos negativos o débilmente positivos (valorados como +) concluimos que hasta un 83% de los mismos mostraron escasa o nula expresión de p16 y sólo en un pequeño porcentaje de casos la expresión fue mayor del 50% de las células.

Estos porcentajes variables de expresión coincidirían con lo previamente descrito en la literatura en cuanto al CB se refiere, aunque hay que destacar nuestros resultados en el análisis comparativo con los controles de CB y CE^{20,25,74,75}. En los controles de CB encontramos un 60% de casos negativos o débilmente positivos (- o +), mientras que en los CE hasta un 80% mostraron esta tinción. Al realizar la comparación entre los 3 grupos, los CB mostraron el mayor porcentaje de positividad, seguido de los CBE y por último los CE, pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

A diferencias de los marcadores IHQ previamente analizados, para p16 no hubo diferencias significativas entre los 3 tipos de tumores. Por lo tanto, teniendo en cuenta nuestros resultados y la gran controversia existente en la literatura, no puede concluirse que este marcador constituya un herramienta útil para discriminar o clasificar de forma adecuada a los CBE.

4.6. p63

p63 se considera un homólogo del gen supresor p53 y se expresa entre otros en las células basales de epitelios escamosos. En cuanto a su significado biológico, se piensa que actúa como oncogen y se ha considerado un buen marcador de lesiones premalignas y malignas originadas de queratinocitos⁴¹. En cuanto a la literatura previa sobre CB y CE, Zheng y cols. estudian este marcador en una serie amplia de tumores encontrando los siguientes resultados. Todos los CB resultan fuertemente positivos mientras que los CE muestran tinciones más variables, disminuyendo de forma marcada en los tumores con mayor diferenciación. En cambio, otros trabajos han mostrado mayor positividad de p63 en los CE que en los CB, siendo incluso mayor que ambos la tinción en enfermedad de Bowen y sin encontrar correlación con el grado de diferenciación de los CE⁴¹.

La tinción para p63 resultó positiva en casi todos nuestros casos de CBE (93%) y un 74% de ellos mostraron tinción fuerte, definida como positividad de más del 50% de las células tumorales. En el casos de los controles de CB este porcentaje fue incluso mayor y el 100% de los tumores mostraron alta expresión de p63. Para los controles de CE se obtuvieron resultados similares, expresándolo de forma marcada el 100% de los mismos.

Como se podía intuir las diferencias entre los 3 grupos de tumores no resultaron estadísticamente significativas. Este hecho era esperable ya que parece asumida la positividad de este marcador en estos tumores cutáneos. En todo caso su utilidad podría radicar en pequeñas diferencias en cuanto a su porcentaje de expresión o su relación con el grado de diferenciación de los tumores, hechos que no hemos podido demostrar en el presente trabajo.

4.7. Otros marcadores realizados

Se realizaron otros marcadores inmunohistoquímicos en nuestra serie de casos, con el fin de realizar un estudio lo más completo posible de las características de los CBE. En este caso, ninguno mostró un patrón específico en nuestros tumores. Este hecho, unido a que se trataba de marcadores que no se habían demostrado significativamente útiles en lo que al diagnóstico diferencial del CCNM se refiere (por la variedad de resultados encontrada en los trabajos previos), hizo que no se incluyeron en el estudio de controles para el análisis comparativo posterior.

A parte de la CK17, descrita en previamente, se estudió la inmunorreacción para CK5/6 y 34BetaE12. Ambas son CK de alto peso molecular y se expresan tanto en CB como en CE, aunque en general se describe una mayor expresión de las mismas en el caso de los CE¹⁰. La tinción fue claramente positiva aunque en diferente proporción para CK5/6 y 34BetaE12, siendo un 93% y 100% de los casos respectivamente. En nuestra serie no se pudo observar un patrón característico o distintivo para los CBE, por lo que no se incluyeron en el análisis posterior. Estos resultados coinciden con los encontrados para CK en los escasos trabajos publicados sobre inmunohistoquímica en los CBE^{11,56}.

Los mismos resultados no concluyentes se objetivaron para los marcadores D2-40, CD34 y Adipofilina. No se objetivo invasión linfática-vascular en ninguno de los CBE. La tinción con CD34 resultó negativa en todos los casos y con D2-40 negativa en su mayoría. Se objetivaron 5 casos positivos para D2-40 (11%) pero con una expresión muy focal, hallazgo descrito en trabajos previos sobre CB convencionales⁷⁸. En la literatura se describe una mayor frecuencia de positividad de D2-40 en CE y su posible relación con el potencial metastásico^{40,78}, pero nuevamente no pudimos encontrar diferencias o hallazgos significativos para este último marcador en nuestra serie de CBE.

Por último, el estudio para Adipofilina resultó negativo en el 100% de los casos. Cabe destacar que la tinción positiva granular con Adipofilina se considera un patrón inespecífico no relacionado con diferenciación sebácea, por lo que se consideró inmunotinción negativa^{79,80}. Observando nuestros resultados (todos los casos fueron negativos) podemos concluir que en nuestra serie ningún tumor mostraba diferenciación sebácea.

5. CORRELACIÓN COMPORTAMIENTO BIOLÓGICO CON HALLAZGOS HISTOLÓGICOS

En un intento por estudiar de forma exhaustiva todas las características de nuestros casos y su posible relación con su pronóstico o comportamiento biológico, se decidió analizar si aquellos casos que clínicamente mostraron un comportamiento más agresivo cumplían criterios histológico de mal pronóstico. Igualmente se compararon estas características clínicas y anatomopatológicas con el fenotipo inmunohistoquímico (SCORE) de dichos tumores.

Se realizaron las comparaciones en aquellos tumores que mostraron recidiva en el seguimiento o habían sido operados por recidiva previa. En ambos grupos las características histológicas analizadas fueron el patrón de crecimiento de las áreas basaloides y el grado de diferenciación de las áreas escamosas o de transición. En ninguno de los casos se encontraron diferencias estadísticamente significativas, por lo que no se puede concluir que el estudio anatomopatológico convencional permita prever una peor evolución de estos tumores en nuestra serie. No hemos encontrado estudios previos en CBE que analicen el grado de diferenciación del componente escamoso o las diferencias del componente basaloide, asumido en la mayoría de los trabajos como habitualmente infiltrativo⁵². Por lo tanto, no podemos extrapolar ni sacar conclusiones de estos hallazgos.

Finalmente se analizó el SCORE inmunohistoquímico, en estos casos con características clínicas o histológicas de mal pronóstico. En cuanto a la clínica, no se observaron diferencias estadísticamente significativas, siendo las puntuaciones medias del SCORE similares entre los distintos grupos. Analizando en profundidad aquellos casos que presentaron recidiva clínica considerada relevante (aclaración realizada en punto 3.2) encontramos 2 tumores con SCORE compatible con CE (0 y 1) y 1 tumor con puntuación compatible con CB (4). Por lo tanto, las limitadas recidivas encontradas sumado a su diferente puntuación, nos impide una vez más encontrar un patrón inmunohistoquímico definitivo que clasifique a estos tumores de forma individual.

Curiosamente, en la comparación del SCORE presentado por los tumores con las características histológicas, sí se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Se encontró un SCORE medio significativamente mayor en los tumores que mostraron patrón infiltrativo de las áreas basaloides, no pudiéndose relacionar con el grado de diferenciación

escamosa. Dado que un SCORE mayor se acerca más al polo carcinoma basocelular y que el patrón infiltrativo es de sobra asociado a un peor pronóstico, nos hace pensar que este hallazgo no tenga una clara relevancia, sin poderse descartar el efecto del azar al tratarse de muestras pequeñas a nivel estadístico.

6. LIMITACIONES DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Los resultados de este trabajo de investigación deben ser considerados en el contexto de alguna limitaciones y problemas metodológicos que se enumeran a continuación:

- 1- Se trata de un estudio retrospectivo, con las limitaciones inherentes al mismo. Al realizarse la búsqueda de casos en las bases de datos de Anatomía Patológica y en tres centros hospitalarios diferenciados, la información disponible de las historias clínicas de los pacientes fue limitada en muchos de los casos. Por ello no se pudieron conocer todas las características clínicas exactas de los 42 tumores, previamente a la obtención de la muestra. Tampoco se pudo obtener información precisa del seguimiento clínico en muchos de los casos, hecho fundamental para el registro de recidivas o posibles metástasis. Este hecho se vio dificultado aún más por las características propias de la población que padece estos tumores o el CCNM en general. Al tratarse de pacientes de edad avanzada, muertes o diversas comorbilidades explican la falta de información en las historias clínicas de los servicios de Dermatología.
- 2- El tamaño muestral final, 42 casos, y la gran diversidad de los mismos por la falta de unificación de criterios diagnósticos previos, limita la posibilidad de conseguir resultados estadísticamente significativos.
- 3- A la hora de evaluar la validez del SCORE, no solo de forma teórica (ya existe mucha literatura que lo refuerza) sino también de forma experimental, se debía aplicar a unas muestras control de carcinomas basocelulares y carcinomas epidermoides. Para conseguir una evidencia o potencia estadística mayor se necesitaría haber utilizado un número de controles más amplio, pero las limitaciones logísticas hicieron que se escogieran 10 controles para cada grupo, por considerarse un número suficiente a nivel conceptual aunque no a nivel matemático.

VI. CONCLUSIONES

- 1- No se objetivó ningún caso metastásico y la tasa de recidiva fue del 9%. Por lo tanto, no se puede concluir que esta serie de casos presente un comportamiento biológico más agresivo que los carcinomas basocelulares convencionales. Tampoco se encontró relación entre un comportamiento biológico más agresivo y un fenotipo inmunohistoquímico concreto.
- 2- No se ha encontrado ningún marcador o grupo de marcadores inmunohistoquímicos que pueda determinar el diagnóstico de carcinoma basoescamoso en cada caso particular. Sin embargo, como grupo, los carcinomas basoescamosos sí presentaron diferencias inmunohistoquímicas tanto con el grupo de carcinomas basocelulares como con el grupo de carcinomas espinocelulares.
- 3- Como hallazgos secundarios, podemos concluir que el grupo de carcinomas basoescamosos mostró un patrón inmunohistoquímico distinto de BerEp4, EMA y bcl-2 con respecto a los carcinomas basocelulares y los carcinomas espinocelulares. El SCORE inmunohistoquímico de estos 3 marcadores mostró diferencias significativas en los 3 tipos de tumores, siendo polar en los grupos de carcinoma basocelular y carcinoma espinocelular e intermedio en el grupo de carcinoma basoescamoso. La pérdida de expresión marcada de CK17 mostró diferencias significativas en los 3 grupos de tumores y fue intermedia en los carcinomas basocescamosos.

VII. RESUMEN

El carcinoma basoescamoso (CBE) es un tumor cutáneo poco frecuente y que ha generado gran controversia en cuanto a su definición histológica y verdadera naturaleza. Actualmente lo más aceptado es que se trata de un carcinoma basocelular (CB) asociado a áreas de diferenciación escamosa o epidermoide y que tiene un comportamiento biológico más agresivo con mayor tasa de recidivas y metástasis. Aún así, la literatura publicada en torno a esta entidad es escasa, utilizando diferentes terminologías o definiciones. No existen estudios amplios que utilicen la inmunohistoquímica (IHQ) para intentar definir o diagnosticar con más precisión este tipo de CCNM, y poder diferenciarlo de CB o carcinoma epidermoides (CE) convencionales.

Este trabajo pretende analizar en profundidad las características clínicas, el comportamiento biológico y las características IHQ que presentan los CBE. Para ello, se obtuvieron los casos diagnosticados en 3 centros hospitalarios (Hospital Ramón y Cajal, Hospital Universitario de Guadalajara y Hospital 12 de Octubre). Se seleccionaron finalmente un total de 42 casos tras la valoración anatomopatológica, se extrajo la información de las historias clínicas y se realizó un estudio IHQ extenso. Éste se centró en los 3 anticuerpos que mayor utilidad habían demostrado para el diagnóstico diferencial entre CB y CE: BerEp4, EMA y bcl-2. Se diseñó un SCORE, resultante de la suma de las puntuaciones de estos 3 marcadores, que pudiera definir un fenotipo IHQ similar a CB, CE o fenotipo mixto o intermedio. También se realizó un estudio comparativo con controles de CB y CE convencionales, utilizando aquellos marcadores IHQ que resultaron de mayor utilidad.

Se encontraron unas características clínicas similares a las que habitualmente se observan en los CB. La tasa de recidivas fue del 9% y no se encontró ningún caso metastásico. Estos datos difieren de lo previamente publicado y no podemos concluir que esta serie de tumores presentasen un comportamiento biológico más agresivo que los CB convencionales.

En cuanto al estudio IHQ, los CBE presentaron un patrón distinto al encontrado en los CB y CE convencionales. Los CBE mostraron una media de positividad intermedia entre los CB y los CE para los marcadores BerEp4, EMA y bcl-2. El SCORE también mostró diferencias estadísticamente significativas entre los 3 tipos de tumores, con una puntuación intermedia para el grupo de los CBE. Por último, también se encontraron diferencias para la tinción con CK17, en cuanto a la pérdida de expresión se refiere, siendo intermedia para los CBE.

Aún así, hubo una gran dispersión de los resultados y se encontró una gran heterogeneidad en cuanto a la IHQ de nuestros casos. Por lo tanto, aunque como grupo

podimos encontrar diferencias de los CBE con respecto a los CB y los CE, no se encontró ningún marcador o grupo de marcadores que pudiera definir o diagnosticar a cada tumor de forma individual.

Ninguna de las variables del estudio se relacionó con un peor pronóstico o comportamiento biológico.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. McGrath J.S, Uitto J. Anatomy and organization of human skin. Capítulo en "Rook's Textbook of Dermatology". 8ª ed. Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Blackwell Publishing; 2010.
2. Le Boit PE, Burg G, Weedon D, Sarasin A. Keratinocytic Tumours. Capítulo en "Pathology and genetics, skin tumours". World Health Organization Classification of Tumours. Lyon, IARC Press, 2006.
3. Lomas A, Leonardi-Bee J, Bath-Hextall F. A systematic review of worldwide incidence of nonmelanoma skin cancer. Br J Dermatol. 2012;166:1069-80.
4. National Cancer Intelligence Network (NCIN). *Non-melanoma skin cancer in England, Scotland, Northern Ireland, and Ireland* [en línea]. London: NCIN;2013. [Consulta 4 mayo 2014] . <http://www.ncin.org.uk/databriefings>.
5. Quinn A.G, Perkins W. Non-Melanoma skin cancer and other epidermal skin tumours. Capítulo en "Rook's Textbook of Dermatology". 8ª ed. Burns T, Breathnach S, Cox N, Griffiths C. Blackwell Publishing; 2010.
6. Tejera-Vaquerizo A, Descalzo-Gallego MA, Otero-Rivas MM, Posada-García C Rodríguez-Pazos L, Pastushenko I, et al. Incidencia y mortalidad del cáncer cutáneo en España: revisión sistematica y metaanálisis. Actas Dermosifiliograf. 2016;107:317-27.
7. Vilar-Coromina N, Miró-Queralt J, Cano-Bautista A, Vilardell-Gil L, Torres Babié P, Marcos Gragera R. Med Clin (Barc). 2011;137:145-51.
8. Boyle P, Doré JF, Autier P, Ringborg U. Cancer of the skin: a forgotten problem in Europe. Ann Oncol. 2004;15:5-6.
9. Eisemann N, Waldmann A, Geller AC, Weinstock MA, Volkmer B, Greinert R, Breitbart EW, Katalanic A. Non-Melanoma Skin Cancer Incidence and Impact of Skin Cancer Screening on Incidence. J Invest Dermatol. 2014;134:43-50.
10. Weedon D. Tumors of the epidermis. Capítulo en "Weedon's skin Pathology". 3ª ed. London: Churchill Livingstone Elsevier; 2010.
11. Beer TW, Shepherd P, Theaker JM. Ber EP4 and epithelial membrane antigen aid distinction of basal cell, squamous cell and basosquamous carcinomas of the skin. Histopathology. 2000;37:218-23.
12. Ponten F, Lundeberg J. Principios de la biología tumoral y patogenia de los carcinomas basocelulares y epidermoides. Capítulo en "Dermatología". 1ª ed. Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP. Madrid: Elsevier; 2004.

13. Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee PH. Tumors of the surface epithelium. Capítulo en "McKee's Pathology of the Skin". 4th ed. Calonje E, Brenn T, Lazar A, McKee PH Elsevier Saunders; 2012.
14. Miller S.J, Moresi M. Queratosis actínica, carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide. Capítulo en "Dermatología". 1ª ed. Bologna JL, Jorrizzo JL, Rapini RP. Madrid: Elsevier; 2004.
15. Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. Immunohistochemistry in dermatopathology: a review of the most commonly used antibodies (part I). *Actas Dermosifiliogr.* 2013;104:99-127.
16. Anderson-Dockter H, Clark T, Iwamoto S, Lu M, Fiore D, Falanga JK y cols. Diagnostic utility of cytokeratin 17 immunostaining in morpheaform basal cell carcinoma and for facilitating the detection of tumor cells at the surgical margins. *Dermatol Surg.* 2012;38:1357-66.
17. Mateoiu C, Pirici A, Bogdan F. Immunohistochemical nuclear staining for p53, PCNA, Ki67 and bcl2 in different histologic variants of basal cell carcinoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2011;52:315-319.
18. Abu Juba B, Şovrea A, Crişan D, Melincovici C, Coneac A, Badea M, et al. Apoptotic markers in photoinduced cutaneous carcinoma. *Rom J Morphol Embryol.* 2013;54:741-7.
19. Puizina-Ivić. Sapunar D, Marasović D, Mirić L. An overview of Bcl-2 expression in histopathological variants of basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, actinic keratosis and seborrheic keratosis. *Coll Antropol.* 2008;32:61-5.
20. Zheng Z, Kye Y, Zhang X, Kim A, Kim I. Expression of p63, bcl-2, bcl-2 and p16 en basal cell carcinoma and squamous cell carcinoma of the skin. *Korean J Pathol.* 2005;39:91-8.
21. Plaza JA, Ortega PF, Bengana C, Stockman DL, Suster S. Immunolabeling pattern of podoplanin (d2-40) may distinguish basal cell carcinomas from trichoepitheliomas: a clinicopathologic and immunohistochemical study of 49 cases. *Am J Dermatopathol.* 2010;32:683-7.
22. Ishida M, Kushima R, Okabe H. Immunohistochemical demonstration of D2-40 in basal cell carcinomas of the skin. *J Cutan Pathol.* 2008;35:926-30.
23. Fernández-Flores A. Study o f D2-40 immunoexpression of the spindle cell areas of a metaplastic basal cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2012;20:518-22.

24. Alhumaidi A. Practical immunohistochemistry of epithelial skin tumor. *Indian J Dermatol Venereol Leprol.* 2012;78:698-708.
25. Conscience I, Jovenin N, Coissard C, Lorenzato M, Durlach A, Grange F, et al. P16 is overexpressed in cutaneous carcinomas located on sun-exposed areas. *Eur J Dermatol.* 2006;16:518-22.
26. Kramer E, Herman O, Frand J, Leibou L, Schreiber L, Vaknine H. Ki67 as a biologic marker of basal cell carcinoma: a retrospective study. *Isr Med Assoc. J.* 2014;16: 229-32.
27. Healy E, Angus B, Lawrence CM, Rees JL. Prognostic value of Ki67 antigen expression in basal cell carcinomas. *Br J Dermatol.* 1995;133:737-41.
28. McGuire JF, Ge NN, Dyson S. Nonmelanoma skin cancer of the head and neck I: histopathology and clinical behavior. *Am J Otolaryngol.* 2009;30:121-33.
29. von Domarus H, Stevens PJ. Metastatic basal cell carcinoma. Report of five cases and review of 170 cases in the literature. *J Am Acad Dermatol.* 1984;10:1043-60.
30. Weiss GJ, Korn RL. Metastatic basal cell carcinoma in the era of hedgehog signaling pathway inhibitors. *Cancer.* 2012;118:5310-9.
31. Bath-Hextall FJ, Matin RN, Wilkinson D, Leonardi-Bee J. Interventions for cutaneous Bowen's disease. *Cochrane Database Syst Rev.* 2013;24:CD007281.
32. Gencoglan G, Ozdemir F. Nonmelanoma skin cancer of the head and neck: clinical evaluation and histopathology. *Facial Plast Surg Clin North Am.* 2012;20:423-35.
33. Sari Aslani F, Akbarzadeh-Jahromi M, Jowkar F. Value of CD10 Expression in Differentiating Cutaneous Basal from Squamous Cell Carcinomas and Basal Cell Carcinoma from Trichoepithelioma. *Iran J Med Sci.* 2013;38:100-6.
34. Wagoner J, Keehn C, Morgan MB. CD-10 immunostaining differentiates superficial basal cell carcinoma from cutaneous squamous cell carcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2007;29:555-8.
35. Tatemoto YI, Saka M, Tanimura T, Mori M. Immunohistochemical observations on binding of monoclonal antibody to epithelial membrane antigen in epithelial tumors of the oral cavity and skin. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1987;64:721-6.
36. Heyderman E, Graham RM, Chapman DV, Richardson TC, McKee PH. Epithelial markers in primary skin cancer: an immunoperoxidase study of the distribution of epithelial membrane antigen (EMA) and carcinoembryonic antigen (CEA) in 65 primary skin

- carcinomas. *Histopathology*. 1984;8:423-34.
37. Alomari AK, Glusac EJ, Mc Niff JM. P40 is a more specific marker than p63 for cutaneous poorly differentiated squamous cell carcinoma. *J Cut Pathol* 2014;41:839-45.
38. Swanson PE, Fitzpatrick MM, Ritter JH, Glusac EJ, Wick MR. Immunohistologic differential diagnosis of basal cell carcinoma, squamous cell carcinoma, and trichoepithelioma in small cutaneous biopsy specimens. *J Cutan Pathol*. 1998;25:153-9.
39. Stanimirović A, Cupić H, Bosnjak B, Tomas D, Kruslin B, Belicza M. TP53, Bcl-2 and growth hormone receptor expression in cutaneous squamous cell carcinoma. *Acta Dermatovenerol Croat*. 2005;13:201-5.
40. Toll A, Gimeno-Beltrán J, Ferrandiz-Pulido C, Masferrer E, Yébenes M, Jucglà A, et al. D2-40 immunohistochemical overexpression in cutaneous squamous cell carcinomas: a marker of metastatic risk. *J Am Acad Dermatol*. 2012;67:1310-8.
41. Sakiz D, Turkmenoglu TT, Kabukcuoglu F. The expression of p63 and p53 in keratoacanthoma and intraepidermal and invasive neoplasms of the skin. *Pathol Res Pract*. 2009;205:589-94.
42. Schmultz CD, Karia PS, Carter JB, Han J, Qureshi AA. Factors predictive of recurrence and death from cutaneous squamous cell carcinoma: a 10-year, single-institution cohort study. *JAMA Dermatol*. 2013;149:541-7.
43. Martorell-Calatayud A, Sanmartín Jimenez O, Cruz Mojarrieta J, Guillén Barona C. Carcinoma epidermoide cutáneo: definiendo la variable de alto riesgo. *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104:367-79.
44. Pugliano-Mauro M, Goldman G. Mohs surgery is effective for high-risk cutaneous squamous cell carcinoma. *Dermatol Surg*. 2010;36:1544-53.
45. Bonerandi JJ, Beauvillain C, Caquant L, Chassagne JF, Chaussade V, Clavère P, et al; French Dermatology Recommendations Association (aRED). Guidelines for the diagnosis and treatment of cutaneous squamous cell carcinoma and precursor lesions. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2011;25:1-51.
46. Garcia C, Poletti E, Crowson AN. Basosquamous carcinoma. *J Am Acad Dermatol*. 2009;60:137-43.
47. Tarallo M, Cigna E, Frati R, Delfino S, Innocenzi D, Fama U, et al. Metatypical basal cell carcinoma: a clinical review. *J Esp Clin Cancer Res*. 2008;7:27-65.
48. Rippey JJ. Why classify basal cell carcinomas? *Histopathology*. 1998;32:393-8.

49. Allen KJ, Cappel MA, Killian JM, Brewer JD. Basosquamous carcinoma and metatypical basal cell carcinoma: a review of treatment with Mohs micrographic surgery. *Int J Dermatol*. 2014;53:1395-403.
50. Leibovitch I, Huilgol SC, Selva D, Richards S, Paver R. Basosquamous carcinoma: treatment with Mohs micrographic surgery. *Cancer*. 2005;104:170-5.
51. Skaria AM. Recurrence of basosquamous carcinoma after Mohs micrographic surgery. *Dermatology*. 2010;221:352-5.
52. Tan CZ, Rieger KE, Sarin KY. Basosquamous carcinoma: controversy, advances, and future directions. *Dermatol Surg*. 2016 Jun 21. [Epub ahead of print]
53. Betti R, Crosti C, Ghiozzi S, Cerri A, Moneghini L, Menni S. Basosquamous cell carcinoma: a survey of 76 patients and a comparative analysis of basal cell carcinomas and squamous cell carcinomas. *Eur J Dermatol*. 2013;23:83-6.
54. Giacomel J, Lallas A, Argenziano G, Reggiani C, Piana S, Apalla Z, et al. Dermoscopy of basosquamous carcinoma. *Br J Dermatol* 2013;169:358-64.
55. Mougel F, Kanitakis J, Faure M, Euvrard S. Basosquamous cell carcinoma in organ transplant patients: a clinicopathologic study. *J Am Acad Dermatol*. 2012;66:e151-7.
56. Jones MS, Helm KF, Maloney ME. The immunohistochemical characteristics of the basosquamous cell carcinoma. *Dermatol Surg*. 1997;23:181-4.
57. Kazantseva IA, Khlebnikova AN, Babaev VR. Immunohistochemical study of primary and recurrent basal cell and metatypical carcinomas of the skin. *Am J Dermatopathol*. 1996;18:35-42.
58. Martin RC 2nd, Edwards MJ, Cawte TG, Sewell CL, McMasters KM. Basosquamous carcinoma: analysis of prognostic factors influencing recurrence. *Cancer*. 2000;88:1365-9.
59. Zhu GA, Danial C, Liu A, Li S, Su Chang AL. Overall and progression-free survival in metastatic basosquamous cancer: a case series. *J Am Acad Dermatol*. 2014;70:1145-6.
60. Wermker K, Roknic N, Goessking K, Klein M, Schulze HJ, Hallermann C. Basosquamous carcinoma of the the head and neck: clinical and histologic characterisitcs and their impact on disease progression. *Neoplasia*. 2015;17:301-5.
61. Schuller DE, Berg JW, Sherman G, Krause CJ. Cutaneous basosquamous carcinoma of the head and neck: a comparative analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1979;87:420-7.

62. Bowman PH, Ratz JL, Knoch TG, Barnes CJ, Finley EM. Basosquamous carcinoma. *Dermatol Surg.* 2003;29:830-2.
63. Farmer ER, Helwig EB. Metastatic basal cell carcinoma: a clinicopathologic study of seventeen cases. *Cancer.* 1980;46:748-57.
64. Miller SJ. The National Comprehensive Cancer Network (NCCN) guidelines of care for nonmelanoma skin cancers. *Dermatol Surg.* 2000;26:289-92.
65. Ansai S, Takeichi H, Arase S, Kawana S, Kimura T. Sebaceous carcinoma: an immunohistochemical reappraisal. *Am J Dermatopathol.* 2011;33:579-87.
66. Bieniek A, Pula B, Piotrowska A, Podhorska-Okolow M, Salwa A, Koziol M, et al. Expression of metallothionein I/II and Ki-67 antigen in various histological types of basal cell carcinoma. *P. Folia Histochem Cytobiol.* 2012;50:352-7.
67. Khodaeiani E, Fakhrjou A, Amirnia M, Babaei-Nezhad S, Taghvamanesh F, Razzagh-Karimi E, et al. Immunohistochemical evaluation of p53 and Ki67 expression in skin epithelial tumors. *Indian J Dermatol.* 2013;58:181-7.
68. Yoshikawa K, Katagata Y, Kondo S. Relative amounts of keratin 17 are higher than those of keratin 16 in hair-follicle-derived tumors in comparison with nonfollicular epithelial skin tumors. *J Invest Dermatol.* 1995;104:396-400.
69. Nobusawa A1, Sano T, Negishi A, Yokoo S, Oyama T. Immunohistochemical staining patterns of cytokeratins 13, 14, and 17 in oral epithelial dysplasia including orthokeratotic dysplasia. *Pathol Int.* 2014;64:20-7.
70. Ikeda K, Tate G, Suzuki T, Mitsuya T. Coordinate expression of cytokeratin 8 and cytokeratin 17 immunohistochemical staining in cervical intraepithelial neoplasia and cervical squamous cell carcinoma: an immunohistochemical analysis and review of the literature. *Gynecol Oncol.* 2008;108:598-602.
71. Alessi E, Venegoni L, Fanoni D, Berti E. Cytokeratin profile in basal cell carcinoma. *Am J Dermatopathol.* 2008;30:249-55.
72. Misago N, Toda S, Narisawa Y. Folliculocentric squamous cell carcinoma with tricholemmal differentiation: a reappraisal of tricholemmal carcinoma. *Clin Exp Dermatol.* 2012;37:489-91.
73. Misago N, Toda S, Narisawa Y. Tricholemmoma and clear cell squamous cell carcinoma (associated with Bowen's disease): immunohistochemical profile in comparison to normal hair follicles. *Am J Dermatopathol.* 2012;34:394-9.

-
74. Eshkoor SA, Ismail P, Rahman SA, Oshkour SA. p16 gene expression in basal cell carcinoma. *Arch Med Res*. 2008;39:668-73.
 75. Cretnik M, Poje G, Musani V, Kruslin B, Ozretic P, Tomas D, et al. Involvement of p16 and PTCH in pathogenesis of melanoma and basal cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2009;34:1045-50.
 76. Hodges A, Smoller BR. Immunohistochemical comparison of p16 expression in actinic keratosis and squamous cell carcinomas of the skin. *Mod Pathol*. 2002;15:1121-5.
 77. Kaabipour E, Haupt HM, Stern JB, Kanetsky PA, Podolski VF, Martin AM. p16 expression in keratoacanthomas and squamous cell carcinomas of the skin: an immunohistochemical study. *Arch Pathol Lab Med*. 2006;130:69-73.
 78. Yang HM, Cabral E, Dadras SS, Cassarino DS. Immunohistochemical expression of D2-40 in benign and malignant sebaceous tumors and comparison to basal and squamous cell carcinomas. *Am J Dermatopathol*. 2008;30:549-54.
 79. Ostler DA, Prieto VB, Reed JA, Deavers MT, Lazar AF, Ivan D. Adipophilin expression in sebaceous tumors and other cutaneous lesions with clear cell histology: an immunohistochemical study of 117 cases. *Mod Pathol*. 2010; 23:567-73.
 80. Fuertes L, Santonja C, Kutzner H, Requena L. Immunohistochemistry in dermatopathology: a review of the most commonly used antibodies (part II). *Actas Dermosifiliogr*. 2013;104:181-203.

IX. ANEXOS

ANEXO 1: INFORMACIÓN Y MEDICIONES DE TODOS LOS CASOS DEL ESTUDIO DIVIDIDAS POR TABLAS.

Carcinomas Basoescamosos

Caso	Edad (años)	Sexo	Inmunosupresión	Antecedentes CCNM
1	76	V	No	CB
2	78	F	No	No
3	63	V	No	No
4	78	V	No	CB
5	62	V	No	CB + CE
6	ND	V	ND	ND
7	ND	V	ND	ND
8	ND	V	ND	ND
9	ND	F	ND	ND
10	ND	V	ND	ND
11	79	V	Si	CB + CE
12	64	V	Si	No
13	82	V	ND	CB + CE
14	83	F	Si	CB + CE
15	84	V	No	CE
16	86	V	No	CE
17	72	V	Si	No
18	87	F	No	No
19	89	V	ND	CB
20	89	F	No	No
21	91	V	No	CB + CE
22	74	V	No	CB + CE
23	91	V	No	No
24	91	V	Si	ND
25	94	V	No	ND

26	95	F	ND	ND
27	52	V	No	CB + CE
28	75	V	No	ND
29	58	V	No	ND
30	69	F	Si	CE
31	97	V	No	No
32	72	V	No	CB + CE
33	61	V	No	No
34	74	V	No	CB
35	66	V	No	CB
36	67	V	Si	CB + CE
37	66	V	No	CB + CE
38	75	F	Si	CB + CE
39	71	V	No	No
40	89	V	No	CB
41	67	V	No	No
42	84	V	No	No

Características clínicas de los casos. ND: No disponible. V: Varón. M: Mujer. CCNM: Cáncer cutáneo no melanoma. CB: Carcinoma basocelular. CE: Carcinoma epidermoide.

Caso	Localización	Tamaño (mm)	TE (meses)	Ulceración	Dx sospecha
1	A	ND	ND	No	CB
2	M	28	3	Si	CE
3	B	40	ND	Si	CB
4	A	10	12	No	CB
5	A	13	ND	Si	CB
6	B	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND
8	A	ND	ND	ND	ND
9	M	ND	ND	ND	ND

10	ND	ND	ND	ND	ND
11	A	20	18	Si	CE
12	A	13	18	No	Otros
13	A	15	24	Si	CB
14	A	7	12	Si	CB
15	A	15	12	No	CE
16	B	30	3	Si	CE
17	A	13	ND	No	CB
18	A	15	8	No	CE
19	B	ND	ND	Si	ND
20	B	30	14	No	Otros
21	A	8	12	Si	CB
22	A	ND	ND	ND	CB
23	A	ND	36	No	Otros
24	A	ND	12	Si	CB
25	A	5	ND	No	CB
26	M	ND	ND	No	CB
27	ND	5	ND	Si	CE
28	B	15	ND	No	CE
29	A	ND	ND	ND	CB
30	B	ND	ND	ND	CE
31	A	5	ND	ND	CB
32	A	12	12	ND	CB
33	A	4	ND	No	CB
34	A	5	ND	No	CB
35	A	5	ND	No	CB
36	M	3	ND	No	CB

37	A	4	ND	Si	CE
38	M	18	4	Si	CE
39	M	20	ND	Si	CB
40	A	15	ND	No	CB
41	A	18	12	No	CB
42	A	9	ND	No	CB

Características clínicas del tumor. ND: No disponible. A: área de riesgo alto de recidiva. M: área de riesgo medio de recidiva. B: área de riesgo bajo de recidiva. TE: Tiempo de evolución. Dx: Diagnóstico. CB: Carcinoma basocelular. CE: Carcinoma epidermoide.

Caso	Indicación Tx	Tx	Márgen qx	Bordes afectos	TS (meses)	Recidiva
1	P	ES	ND	Si	18	No
2	P	ES	10	No	26	No
3	P	ES	5	No	ND	No
4	P	ES	4	No	14	No
5	P	ES	5	No	216	No
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND
7	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND
9	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND
11	R	ES	5	Si	6	No
12	P	ES	ND	Si	12	No
13	P	Cx Mohs			22	No
14	P	ES	5	No	66	Si
15	P	ES	10	No	48	No
16	P	ES	10	No	26	No
17	P	ES	5	No	17	No
18	R	ES	5	Si	11	No
19	P	ES		No	14	ND

20	P	ES	10	No	24	Si
21	P	ES	5	No	26	ND
22	P	ES		No	24	ND
23	R	ES		No	13	ND
24	P	Cx Mohs		3	12	ND
25	P	ES	4	No	96	No
26	ND	Bp			20	ND
27	P	ES	5	No	108	No
28	ND	ES	20	No	113	ND
29	R	Bp			ND	ND
30	R	ES	5	No	5	Si
31	P	Bp			4	ND
32	P	ES	3	Si	60	Si
33	P	ES	4	Si	54	No
34	P	Bp			48	No
35	P	ES	3	No	36	No
36	P	ES	4	No	3	ND
37	P	ES	5	No	12	No
38	P	ES	3	Si	ND	ND
39	P	ES	5	No	72	No
40	P	ES	4	No	2	No
41	P	ES	5	No	6	No
42	P	ES	4	No	7	No

Tratamiento realizado y seguimiento clínico. ND: No disponible. Tx: Tratamiento. TS: Tiempo de seguimiento. P: Tumor primario. R: Recidiva clínica. ES: Extirpación simple. Cx Mohs: Cirugía Mohs. Bp: Biopsia.

Caso	Patrón CB	Diferenciación CE	Profundidad invasión	Invasión perineural	Invasión linfovascular
1	E	G2	1,19	No	No
2	I	G3	9,51	No	No
3	I	G1	1,13	No	No

4	E	G2	2,24	NV	No
5	E	G2	5,66	No	No
6	I	G2	3,85	No	No
7	E	NV	3,24	No	No
8	E	G2	1,71	No	No
9	E	G1	2,94	No	No
10	I	G1	2.41	No	No
11	I	G2	3,11	No	No
12	E	G1	≥4	NV	No
13	I	G2	NV	No	No
14	I	NV	NV	NV	No
15	E	G2	≥2	No	No
16	E	G1	≥1	NV	No
17	E	G1	2,14	No	No
18	I	G2	9,08	Si	No
19	I	G3	2,86	No	No
20	I	G2	12,89	No	No
21	E	G1	4,15	No	No
22	I	G2	1,01	No	No
23	E	G2	NV	No	No
24	E	G2	1,26	No	No
25	E	G1	3	NV	No
26	NV	G1	0,26	NV	No
27	I	G1	3,5	No	No
28	I	G2	10,58	No	No
29	I	G2	NV	NV	No
30	E	G2	NV	NV	No
31	E	G1	NV	NV	No
32	I	NV	2,87	No	No
33	I	G1	NV	NV	No

34	E	G1	0,2	No	No
35	I	G3	NV	NV	No
36	I	G2	2,36	Si	No
37	E	G2	1,32	No	No
38	E	G2	3,18	No	No
39	I	G2	NV	No	No
40	I	NV	NV	No	No
41	I	G2	5,44	No	No
42	E	G2	3,21	No	No

Factores anatomopatológicos asociados a mal pronóstico. NV: No valorable. E: Expansivo. I: Infiltrativo.

Caso	BerEP4	EMA	bcl2	SCORE
1	2	2	1	5
2	1	0	0	1
3	2	1	1	4
4	2	2	1	5
5	0	1	0	1
6	1	2	0	3
7	1	2	1	4
8	0	1	0	1
9	2	2	1	5
10	2	2	1	5
11	1	1	0	2
12	0	2	1	3
13	0	2	1	3
14	0	0	0	0
15	2	2	1	5
16	0	0	0	0
17	0	1	0	1
18	0	2	0	2

19	2	2	1	5
20	2	1	1	4
21	0	1	0	1
22	2	2	1	5
23	1	0	0	1
24	1	1	0	2
25	2	2	1	5
26	0	2	0	2
27	1	2	0	3
28	2	2	1	5
29	1	2	1	4
30	0	1	0	1
31	0	0	0	0
32	2	2	1	5
33	1	2	0	3
34	0	0	0	0
35	0	2	0	2
36	1	2	1	4
37	0	0	0	0
38	0	0	0	0
39	0	1	1	2
40	1	2	1	4
41	2	2	1	5
42	1	1	0	2

Valoración de la inmunotinción con BerEp4, EMA y bcl-2. SCORE: Puntuación obtenida tras la suma de los 3 marcadores en cada caso.

Caso	CK17	CK 5/6	34BetaE12
1	+++	++	++
2	+++	++	+++
3	+++	++	+++

4	+++	+++	+++
5	+	+	+++
6	++	+	+++
7	+++	+	+++
8	+	+++	+++
9	+++	+++	+++
10	+++	-	+
11	++	++	+++
12	+++	+	+++
13	++	+	+
14	+	+	+
15	+++	+++	+++
16	++	+++	+++
17	++	++	+
18	+++	++	++
19	+++	-	+
20	+++	++	+++
21	+	+++	+++
22	+++	+++	+++
23	++	++	+++
24	+	++	++
25	+++	+++	+++
26	++	+++	+++
27	+++	++	+++
28	+++	++	++
29	++	+	++
30	++	++	+++
31	+	+	++
32	++	-	+
33	++	++	++

34	+	++	+++
35	+	+++	+++
36	+++	+++	+++
37	++	++	+++
38	++	++	+++
39	++	+++	+++
40	+++	+++	+++
41	+++	+++	+++
42	++	+++	+++

Valoración inmunohistoquímica semicuantitativa de los 3 marcadores para citoqueratinas.

Caso	p16	P63
1	+	++
2	-	++
3	+	++
4	+	+++
5	+	+
6	-	+
7	+	+
8	+	+++
9	+	+++
10	+	-
11	+	++
12	+	+
13	-	+
14	-	+
15	+	+++
16	+	+++
17	+	++
18	+	++

19	+	-
20	+	++
21	-	+++
22	+++	+++
23	-	++
24	-	++
25	+	+++
26	-	+++
27	++	++
28	-	++
29	+	+
30	+++	++
31	-	+
32	+	-
33	-	++
34	-	++
35	+++	+++
36	++	+++
37	-	++
38	+++	++
39	+++	+++
40	+	+++
41	+	+++
42	-	+++

Resultados de la valoración inmunohistoquímica de los marcadores p16 y p63.

Controles de carcinoma basocelular y carcinoma epidermoide

Controles	BerEp4	EMA	bcl-2	Score
CBE-1	2	2	1	5
CBE-2	2	2	1	5
CBE-3	2	2	1	5
CBE-4	2	2	1	5
CBE-5	2	2	1	5
CBI-1	2	2	1	5
CBI-2	2	2	1	5
CBI-3	2	2	1	5
CBI-4	2	2	1	5
CBI-5	2	2	1	5
CE-1	0	1	0	1
CE-2	0	1	0	1
CE-3	0	0	0	0
CE-4	0	1	0	1
CE-5	0	0	0	0
CE-6	0	1	0	1
CE-7	0	0	0	0
CE-8	0	0	0	0
CE-9	0	1	0	1
CE-10	0	0	0	0

Resultados del estudio inmunohistoquímico en los casos controles. CBE: Carcinoma basocelular expansivo. CBI: Carcinoma basocelularinfiltrativo. CE: Carcinoma Epidermoide.